



Σχολή Επιστημών Τροφίμων

Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

"Βελτιστοποίηση παραλαβής φαινολικών ενώσεων από παραπροϊόντα
ρόδων, λεβάντας και ρίγανης με χρήση εκχύλισης με υπέρηχους και μοντέλων
πειραματικού σχεδιασμού"

“Optimization of the extraction of phenolic compounds from rose, lavender and
oregano by-products using ultrasound assisted extraction and experimental design”



ΜΠΑΡΔΟΥΣΗ ΛΑΜΠΡΙΝΗ ΜΑΡΙΝΑ
ΜΥΛΩΝΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΚΟΝΤΕΛΕΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ

ΑΙΓΑΛΕΩ 2023/AIGALEO 2023

Η πτυχιακή εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

Α/Α	ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ	ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ
1.	ΣΙΝΑΝΟΓΛΟΥ ΒΑΣΙΛΕΙΑ	
2.	ΚΟΝΤΕΛΕΣ ΣΠΥΡΙΔΩΝ	
3.	ΖΟΥΜΠΟΥΛΑΚΗΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ	

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Οι κάτωθι υπογεγραμμένοι ΜΠΑΡΔΟΥΣΗ ΛΑΜΠΡΙΝΗ ΜΑΡΙΝΑ του ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ, με αριθμό μητρώου 18684096 και ΜΥΛΩΝΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ του ΓΕΩΡΓΙΟΥ, με αριθμό μητρώου 18684036 φοιτητής/τρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ του Τμήματος ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, δηλώνω υπεύθυνα ότι: «Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα



Ο Δηλών



Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον επιβλέποντα καθηγητή μας κο Κοντελέ Σπυρίδων και τη κα Γιαννακούρου Μαρία για τη βοήθειά κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας πτυχιακής εργασίας, καθώς και τις κα Τσιάκα Θάλεια και Σταυροπούλου Ναταλία. Επίσης, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τις οικογένειες μας για την υπομονή, την κατανόηση και τη στήριξη κατά τη διάρκεια των σπουδών μας στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής.

Περίληψη

Τα αρωματικά φυτά αποτελούν μια ξεχωριστή ομάδα φυτών που βρίσκει πληθώρα εφαρμογών σε διάφορους τομείς, όπως η βιομηχανία των τροφίμων, των φαρμάκων και των καλλυντικών. Κάθε χρόνο παράγεται ένα μεγάλο ποσοστό υπολειμματικής βιομάζας σε στερεή, υγρή ή/και αέρια μορφή από την επεξεργασία των φυτών αυτών και κυρίως μετά την απόσταξή τους για την παραγωγή αιθέριων ελαίων. Τα παραπροϊόντα αυτά περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις βιοδραστικών συστατικών (πχ. φαινολικές, ενώσεις, καροτενοειδή, λιπίδια, κτλ.), τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν στη βιομηχανία τροφίμων για την παραγωγή νέων προϊόντων με υψηλή προστιθέμενη αξία, στον τομέα της υγείας λόγω των ευεργετικών ιδιοτήτων τους στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως η αντιοξειδωτική τους δράση και στον τομέα της κοσμετολογίας ως πρόσθετα σε καλλυντικά προϊόντα. Η παραλαβή των βιοδραστικών ενώσεων από τα στερεά, κυρίως, παραπροϊόντα μπορεί να πραγματοποιηθεί με εφαρμογή διαφόρων τεχνικών εκχύλισης, συμβατικών και μη συμβατικών, όπως η εκχύλιση με υπερήχους, με μικροκύματα, με υπερκρίσιμα ρευστά κ.ά. Στην παρούσα μελέτη έγινε πειραματικός σχεδιασμός για την εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών, και πιο συγκεκριμένα φαινολικών συστατικών, από στερεά παραπροϊόντα ρίγανης, λεβάντας και ροδοπέταλων με την τεχνική της εκχύλισης με υπερήχους. Επιπλέον, έγινε βελτιστοποίηση της διαδικασίας για το κάθε αρωματικό φυτό με στόχο τη μέγιστη παραλαβή φαινολικών ουσιών από τα παραπροϊόντα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η εκχύλιση με υπερήχους είναι μία αποτελεσματική τεχνική για την εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών από παραπροϊόντα αρωματικών φυτών, με το ποσοστό αιθανόλης να είναι ο παράγοντας που επηρεάζει σε μεγαλύτερο βαθμό την απόδοσή της. Τα παραπροϊόντα με την υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ήταν τα ροδοπέταλα, ενώ τα παραπροϊόντα λεβάντας περιείχαν το χαμηλότερο περιεχόμενο φαινολικών ουσιών.

Λέξεις-κλειδιά: αρωματικά φυτά, παραπροϊόντα, φαινολικές ενώσεις, εκχύλιση με υπερήχους

Abstract

Aromatic plants are a distinct group of plants that have a wide range of applications in various sectors, such as the food, pharmaceutical and cosmetic industries. Every year a large amount of residual biomass in solid, liquid and/or gaseous form is produced from the processing of these plants, especially after their distillation for the production of essential oils. These by-products contain high concentrations of bioactive components (such as phenolic compounds, carotenoids, carotenoids, lipids, etc.), which can be exploited in the food industry to produce new products with high added value, in the health field due to their beneficial properties in the human body, such as their antioxidant activity and in the cosmetic sector as additives in cosmetic products. The extraction of bioactive compounds from solid mainly by-products, can be carried out by applying various extraction techniques, conventional and non-conventional, such as ultrasonic, microwave, supercritical fluid extraction, etc. In the present study, an experimental design was carried out for the extraction of bioactive compounds, more specifically phenolic compounds, from solid by-products of oregano, lavender and rose petals using ultrasonic extraction technique. In addition, the process was optimized for each aromatic plant in order to maximize the extraction of phenolic substances from the by-products. The results showed that ultrasonic extraction is an effective technique for the extraction of bioactive compounds from aromatic plant by-products, with the ethanol content being the factor that most influences its performance. The by-products with the highest concentration of phenolics were rose petals, while lavender by-products contained the lowest phenolic content.

Keywords: aromatic plants, by-products, phenolic compounds, ultrasound extraction

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	4
Αφιερώσεις.....	Σφάλμα! Δεν έχει οριστεί σελιδοδείκτης.
Περίληψη.....	5
Abstract.....	6
Εισαγωγή.....	12
Κεφάλαιο 1: Αρωματικά φυτά.....	13
1.1 Αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών.....	14
1.1.1 Κυριότερα είδη αρωματικών φυτών στην Ελλάδα.....	15
Ρίγανη (<i>Origanum sp.</i>).....	15
Λεβάντα (<i>Lavandula angustifolia</i>).....	17
Άγριο τριαντάφυλλο.....	19
1.2 Χρήσεις αρωματικών φυτών.....	20
1.3 Βιοδραστικά συστατικά αρωματικών συστατικών.....	21
1.4 Βιοδραστικές ιδιότητες αρωματικών φυτών.....	28
1.5 Αξιοποίηση Βιοδραστικών Συστατικών στην Βιομηχανία: Τεχνικές διαχείρισης και πιθανές χρήσεις παραπροϊόντων των αρωματικών φυτών.....	30
1.5.1 Απόβλητα ρίγανης (<i>Origanum vulgare</i>).....	32
1.5.2 Απόβλητα τριαντάφυλλου της Δαμασκού (<i>Rosa damascena</i>).....	33
1.5.3 Απόβλητα λεβάντας (<i>Lavandula angustifolia</i>).....	34
Κεφάλαιο 2. Εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών αρωματικών φυτών.....	36
2.2. Εκχύλιση βιοδραστικών ουσιών αρωματικών φυτών.....	37
2.2.1 Εκχύλιση με υπερήχους.....	38
2.2.1.1. Μηχανισμός λειτουργίας.....	38
2.2.1.2. Πλεονεκτήματα της μεθόδου έναντι άλλων τεχνικών εκχύλισης.....	40
2.2.1.3. Εκχύλιση φαινολικών και αντιοξειδωτικών ουσιών με τη μέθοδο των υπερήχων.....	42
Σκοπός.....	45
Κεφάλαιο 3: Πειραματικό μέρος.....	46
3.1. Υλικά Και Μέθοδοι.....	46
3.1.1 Παραλαβή δειγμάτων.....	46
3.1.2 Αντιδραστήρια, Υλικά & Όργανα.....	46
3.2. Πειραματικός σχεδιασμός.....	47
3.4. Προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου (total phenolic content, tpc) με τη μεθοδο folin–ciocalteu.....	50
4. Αποτελέσματα.....	53
4.1. Λεβάντα.....	53

4.2. Ρίγανη.....	58
Παρακάτω δίνεται η πολυωνυμική εξίσωση πρόβλεψης για τη ρίγανη:.....	62
4.3. Ρόδα.....	63
4.4 Παραπροϊόντα	69
5. Συμπεράσματα.....	75
ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	77
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	85

Περιεχόμενα Εικόνων

Εικόνα 1.1: Χρήσεις των αρωματικών φυτών (Christaki et al., 2012).....	21
Εικόνα 1.2: Ταξινόμηση φαινολικών ενώσεων (Manousi et al., 2019).....	22
Εικόνα 1.3: Γενική δομή φλαβονοειδούς (Campos, 2018).....	23
Εικόνα 1.4: Γενική δομή κύριων φλαβονών (Pinto et al., 2021).....	23
Εικόνα 1.4: Χημική δομή υδροξυβενζοϊκών και υδροξυκιναμικών οξέων (Manousi et al., 2019).....	25
Εικόνα 1.5: Χημική δομή ρεσβερατρόλη (Pintos et al., 2021).....	26
Εικόνα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση προστιθέμενης αξίας υπολειμματικής βιομάζας αρωματικών φυτών (Saha and Basak, 2019).	32
Εικόνα 2.1: Αισθητήρας υπερήχων (Shams et al., 2015).	39
Εικόνα 2.2: Λουτρό υπερήχων (Shams et al., 2015).	39
Εικόνα 3.2: (a) Σύστημα υπερήχων, (b) Θερμοστοιχεία.	50
Εικόνα 3.3: Αντίδραση του γαλλικού οξέος με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu μέσω μηχανισμού μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου.	51
Εικόνα 4.1: Model summary για πειραματικό σχεδιασμό λεβάντας	54
Εικόνα 4.2: Model summary για πειραματικό σχεδιασμό ρίγανης.....	60
Εικόνα 4.3: Model summary για πειραματικό σχεδιασμό ροδοπέταλων.	64

Περιεχόμενα Πινάκων

Πίνακας 1.1: Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά στην Ελλάδα (Solomou et al., 2016)	13
Πίνακας 1.2: Χημική σύνθεση των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών σε υδροαιθανολικά εκχυλίσματα ($\text{mg} \times 100 \text{g}^{-1}$) (Kosakowska et al., 2017)	16

Πίνακας 1.3: Φαινολικές ενώσεις ορισμένων αρωματικών φυτών (mg/100 g φρέσκου βάρους) (Deligiannidou et al., 2018; Kosakowska et al., 2021; Pintos et al., 2021)...	27
Πίνακας 2.1: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα τεχνικών εκχύλισης αρωματικών φυτών (Calderón-Oliver and Ponce-Alquicira, 2021; Shams et al., 2015).....	41
Πίνακας 2.2: Μελέτες εκχύλισης φαινολικών με την τεχνική των υπερήχων.	44
Εικόνα 3.1: Σχεδιασμός Box-Behnken με 3 μεταβλητές, σε τρία επίπεδα (Ferreira et al. 2007).	48
Πίνακας 3.1: Απεικόνιση των τιμών των παραμέτρων της διεργασίας με βάση τον πειραματικό σχεδιασμό Box Behnken.	48
Πίνακας 4.1: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων λεβάντας.....	53
Πίνακας 4.2: Ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA), για τα δείγματα λεβάντας.....	55
Πίνακας 4.3: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ρίγανης.	58
Πίνακας 4.4: Ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA), για τα δείγματα ρίγανης.....	60
Πίνακας 4.5: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ροδοπέταλων.....	63
Πίνακας 4.6: Ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA), για τα δείγματα ροδοπέταλων.....	65
Πίνακας 4.7: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) παραπροϊόντων σε τέσσερις συνθήκες εκχύλισης α) βέλτιστες συνθήκες, β) εκχύλιση σε συνθήκες που αποδίδουν χαμηλό (TPC), γ) μεσαίο (TPC) και δ) υψηλό (TPC).	72

Περιεχόμενα Γραφημάτων

Γράφημα 4.1: Ραβδόγραμμα Pareto των τροποποιημένων αποτελεσμάτων λεβάντας.....	55
Γράφημα 4.2: α) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και χρόνος εκχύλισης με σταθερή παράμετρο την ένταση των υπερήχων στο 50%, β) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και ένταση υπερήχων με σταθερή παράμετρο τον χρόνο εκχύλισης στα 25 min και γ) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Χρόνος εκχύλισης και ένταση υπερήχων με σταθερή παράμετρο την συγκέντρωση της αιθανόλης στο 60%.....	56
Γράφημα 4.3: Main effects plot. Στον άξονα y'γ δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον άξονα x'χ δίνονται διαδοχικά η συγκέντρωση αιθανόλης, ο χρόνος εκχύλισης και η ένταση των υπερήχων.....	57

Γράφημα 4.4: Interactionplot. Στον άξονα y'y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον x'x δίνεται ο χρόνος εκχύλισης.....	57
Γράφημα 4.5: Ραβδόγραμμα Pareto των τροποποιημένων αποτελεσμάτων ρίγανης	61
Γράφημα 4.6: a) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και ένταση των υπερήχων, με σταθερή παράμετρο την αναλογία διαλύτη/δείγματος και το χρόνο.....	62
Γράφημα 4.7: Maineffectplot. Στον άξονα y'y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον άξονα x'x δίνονται διαδοχικά η συγκέντρωση αιθανόλης και η ένταση των υπερήχων.....	62
Γράφημα 4.8: Ραβδόγραμμα Pareto των τροποποιημένων αποτελεσμάτων ροδοπέταλων.....	65
Γράφημα 4.9: a) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και χρόνος εκχύλισης με σταθερές παραμέτρους την ένταση των υπερήχων στο 50% και την αναλογία διαλύτη/δείγματος στο 40ml/g, b) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και αναλογία διαλύτη/δείγματος με σταθερές παραμέτρους την ένταση των υπερήχων στο 50%και τον χρόνο εκχύλισης στα 25 λεπτά, c) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και ένταση υπερήχων με σταθερές παραμέτρους τον χρόνο εκχύλισης στα 25 λεπτά και την αναλογία διαλύτη/δείγματος στο 40ml/g, d) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: τον χρόνο εκχύλισης και την αναλογία διαλύτη/δείγματος με σταθερές παραμέτρους την συγκέντρωση αιθανόλης στο 60% και ένταση υπερήχων στο 50%, e) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: χρόνος εκχύλισης και ένταση υπερήχων με σταθερές παραμέτρους την συγκέντρωση αιθανόλης στο 60% και την αναλογία διαλύτη/δείγματος στο 40ml/g και f) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: ένταση υπερήχων και την αναλογία διαλύτη/δείγματος με σταθερές παραμέτρους την συγκέντρωση αιθανόλης στο 60% και τον χρόνο εκχύλισης στα 25 λεπτά.	66
Γράφημα 4.10: στον άξονα y'y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον άξονα x'x δίνονται διαδοχικά η συγκέντρωση αιθανόλης, ο χρόνος εκχύλισης, η αναλογία ξηρής δρόγης / διάλυμα και η ένταση των υπερήχων.....	68
Γράφημα 4.11: Interactionplot. Στον άξονα y'y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον x'x δίνονται οι ανεξάρτητες μεταβλητές που μελετήθηκαν στον πειραματικό σχεδιασμό.....	68

Γράφημα 4.12: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων παραπροϊόντων λεβάντας, ρίγανης και ροδοπέταλων στις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης και σε συνθήκες που αποδίδουν χαμηλά φαινολικά και ολικό φαινολικό περιεχόμενο δρογών στις βέλτιστες συνθήκες.70

Εισαγωγή

Η Ελλάδα διαθέτει ένα τεράστιο βοτανικό πλούτο αποτελούμενο από 7.500 διαφορετικά είδη αρωματικών και βοτανικών φυτών, εκ των οποίων τα 850 είναι ενδημικά χωρίς να μπορούν να εντοπιστούν σε άλλα μέρη στον κόσμο. Με τα συγκεκριμένα δεδομένα κατατάσσεται στην τρίτη θέση στον κόσμο σε βοτανική ποικιλομορφία με τα καταγεγραμμένα φυτά να αποτελούν το 50% του συνόλου της Ευρώπης. Οι κλιματολογικές και εδαφολογικές συνθήκες που παρατηρούνται στην Ελλάδα ευνοούν την ανάπτυξη φυτών, όπως το δεντρολίβανο, η ρίγανη, το θυμάρι, το φασκόμηλο και η μέντα (Solomou et al., 2016).

Τα αρωματικά φυτά χαρακτηρίζονται ως μια ξεχωριστή ομάδα φυτών που διαθέτει πληθώρα εφαρμογών σε διάφορους τομείς. Τα αρωματικά φυτά που εντοπίζονται σήμερα χρονολογούνται από την Αρχαία Ελλάδα και οι αναφερόμενες χρήσεις τους παραμένουν σταθερές στο χρόνο μέχρι σήμερα τόσο για ιατροφαρμακευτικούς λόγους όσο και για την ενίσχυση χαρακτηριστικών (γεύση, άρωμα) των τροφίμων. Οι ποικίλες χρήσεις τους περιλάμβαναν την εφαρμογή σε τομείς της υγείας, όπως η ανάρρωση των ασθενών ή εξάλειψη τραυμάτων. Ταυτόχρονα αποτελούν συστατικά των τροφίμων που προσδίδουν ιδιαίτερη γεύση και άρωμα, ενώ μπορούν να αποτελέσουν και πολύτιμα συστατικά σε καλλυντικά και αρώματα. Αν και η χρήση τους μετρά χιλιετίες, η εντατικοποίηση της παραγωγής τους στη Ελλάδα ξεκίνησε πρόσφατα με την συστηματική καλλιέργεια αρωματικών φυτών και ακολούθως με την παραλαβή και χρήση των αιθέριων ελαίων τους και των βιοδραστικών εκχυλισμάτων τους (Κάλφας, 2018).

Πολλά από τα αρωματικά φυτά, όπως το δεντρολίβανο, η ρίγανη, το φασκόμηλο, η μέντα και το θυμάρι, προέρχονται από τις χώρες τις Μεσογείου είτε ως αυτοφυή είτε ως καλλιέργειες. Τα φυτά αυτά καθώς και τα αιθέρια έλαια τους ή τα εκχυλίσματά τους περιέχουν χημικές ουσίες οι οποίες μπορούν να αξιοποιηθούν και να δράσουν ως λειτουργικά συστατικά των τροφίμων καλλυντικών (Solomou et al., 2016; Κάλφας, 2018).

Κεφάλαιο 1: Αρωματικά φυτά

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Ένωση, ως αρωματικά φυτά ορίζονται εκείνα τα φυτά τα οποία χρησιμοποιούνται κυρίως για τις αρωματικές τους ιδιότητες σε διάφορους τομείς της βιομηχανίας (Lubbea and Verpoorte, 2011). Επιπλέον ορισμός για τα αρωματικά φυτά τα ορίζει ως τα φυτά τα οποία διαθέτουν ως κύριο γνώρισμα το άρωμα που αναδύουν λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε πτητικές χημικές ενώσεις. Τα αρωματικά φυτά βρίσκουν πληθώρα εφαρμογών στην κοσμετολογία (καλλυντικά, αρωματικά), στην βιομηχανία τροφίμων και ποτών, στην παρασκευή ροφημάτων, καθώς και στην παραγωγή συμπληρωμάτων διατροφής και διατροφοδραστικών προϊόντων (nutraceuticals) κ.α (Χαλκάκης, 2021).

Στον παρακάτω Πίνακα 1.1. διακρίνονται μερικά αρωματικά φυτά με φαρμακευτικές ιδιότητες που εντοπίζονται στην Ελλάδα.

Πίνακας 1.1. Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά στην Ελλάδα (Solomou et al., 2016)

Επιστημονικό όνομα	Φθινόπωρο	Άνοιξη	Πολυετές	Ετήσιο
Sideritis sp	x		x	
Pimbinella anisum		x		x
Origanum sp	x	x	x	
Origanum dictamus	x	x	x	
Crocus sp		x	x	
Hyssopus officinalis	x	x	x	
Salvia sp	x	x	x	
Origanum majorana	x	x	x	
Jasminum officinalis	x	x	x	
Lavandula spica	x	x	x	
Sinapis sp		x		
Matricaria chamomila	x			x
Hypericum perforatum				x

1.1 Αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών

Τα αιθέρια έλαια είναι εξαιρετικά συμπυκνωμένες, πτητικές, υδρόφοβες ενώσεις. Είναι υπεύθυνες για το άρωμα και την γεύση και μπορούν να παραληφθούν από διάφορα μέρη των φυτών όπως τα άνθη, τα μπουμπούκια, τα φύλλα, τα κλαδιά, το φλοιό, τους καρπούς και τις ρίζες. Συνήθως τα άνθη και τα φύλλα εμφανίζουν το μεγαλύτερο περιεχόμενο σε αιθέρια έλαια, ενώ οι βλαστοί το μικρότερο. Πρόκειται για περίπλοκα μείγματα δευτερογενών μεταβολιτών που αποτελούνται από φαινυλοπροπένια και τερπένια χαμηλού σημείου βρασμού. Οι σημαντικότερες οικογένειες για την παραλαβή αιθέριων ελαίων είναι: Asteraceae, Lamiaceae ή Labiateae και Apiaceae. Από την μελέτη της σύνθεσης των αιθέριων ελαίων έχει διαπιστώσει ότι υπάρχουν πολύτιμα μείγματα κυρίως τερπενοειδών, όπως η λιναλοόλη, γερανιόλη, βορνεόλη, μενθόλη, θουγιανόλη, κιτρονιόλη, α-τερπινεόλη (Christaki et al., 2012).

Επίσης μεγάλη είναι και η ποικιλία των αλειφατικών υδρογονανθράκων χαμηλού μοριακού βάρους, όπως φαινόλες (θυμόλη, καρβακρόλη, ευγενόλη) και αρωματικές αλδεΐδες. Τα φυτά που χρησιμοποιούνται για την παραλαβή και χρήση των αιθέριων ελαίων τους υπολογίζονται ότι είναι πάνω 3000 είδη φυτών από τα οποία τα 300 αξιοποιούνται για εμπορικούς λόγους κυρίως ως αρώματα (Solomou et al., 2016). Από την αρχαιότητα ακόμα έπαιζαν καθοριστικό ρόλο στην φροντίδα της υγείας των ανθρώπων ενώ σήμερα η χρήση τους συνεχίζεται αμείωτη για ιατρικούς σκοπούς, ειδικά στις αναπτυσσόμενες χώρες, όπου έως και το 80% των ανθρώπων καταναλώνουν φυτικά φάρμακα και πάνω από το 25% των φαρμάκων στις ανεπτυγμένες χώρες έχουν φυτική προέλευση (Christaki et al., 2020).

Η εξαγωγή των αιθέριων ελαίων πραγματοποιείται με την διαδικασία της απόσταξης. Ανάλογα με το τύπο τους και την συγκέντρωσή τους, τα αιθέρια έλαια παρουσιάζουν κυτταροτοξικές επιδράσεις στα ζωντανά κύτταρα. Η κυτταροτοξική δράση των αιθέριων ελαίων οφείλεται κυρίως στην παρουσία ουσιών όπως είναι οι φαινόλες, οι αλδεΐδες και οι αλκοόλες (Christaki et al., 2012). Παρόλα αυτά, σε συγκεκριμένες ποσότητες διαθέτουν αντιμικροβιακές και αντιοξειδωτικές ιδιότητες, ενώ παράλληλα μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην συντήρηση των τροφίμων επιβραδύνοντας τη μικροβιακή ανάπτυξη και την οξειδωτική φθορά. Ωστόσο, μέχρι σήμερα η χρήση των αιθέριων ελαίων ως συντηρητικά φαίνεται

να είναι περιορισμένη, λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων που απαιτούνται για να επιτευχθεί επαρκής αντιμικροβιακή δράση, οι οποίες δεν είναι πάντα οργανοληπτικά αποδεκτές από τους καταναλωτές. Ως φυσικά πρόσθετα τα αρωματικά φυτά, τα εκχυλίσματα και αιθέρια έλαια τους έχουν εξεταστεί και για τα πλεονεκτήματά τους στην διαχείριση της υγείας των ζώων με την πιθανή τους δράση έναντι των αντιβιοτικών ως αυξητικούς παράγοντες (Christaki et al., 2020).

1.1.1 Κυριότερα είδη αρωματικών φυτών στην Ελλάδα

Τα αρωματικά φυτά κατατάσσονται με βάση την συστηματική βοτανική σε διάφορες οικογένειες, οι οποίες την σειρά τους περιλαμβάνουν τα γένη και ακολούθως τις ποικιλίες των φυτών. Τα περισσότερα από τα κυριότερα αρωματικά φυτά κατατάσσονται στις παρακάτω οικογένειες Compositae: Χαμομήλι (*Matricaria chamomilla*, *Anthemis nobilis*), Γαϊδουράγκαθο (*Silybum marianum*), Lamiaceae: Λεβάντα (*Lavandula officinalis*, *L. angustifolia*, *L. latifolia*.), Μέντα (*Mentha piperita*), Δυόσμος (*Mentha spicata*), Θυμάρι (*Thymus vulgaris*, *Thymus serpylloides*, *Thymus mastichina*, *Thymus longiflorus*.) Τσάι του βουνού (*Sideritis* spp), Umbelliferae: Αγριοσέληνο (*Apium graveolens*), Άγριο καρότο (*Daucus carota*), Μάραθο (*Foeniculum vulgare*), Μαϊντανός (*Petroselinum* spp), Leguminosae: Ψευδοακακία (*Robinia pseudoacacia*), Rosaceae: Άγρια τριανταφυλλιά (*Rosa canina*), Κυδωνιά (*Cydonia oblongata*), Rutaceae: Απήγανος (*Ruta graveolens*) (Κάλφας, 2018).

Ρίγανη (*Origanum* sp.)

Η ρίγανη αποτελεί την κοινή ονομασία για το άρωμα και την γεύση του γένους *Origanum* που χρησιμοποιείται σε όλο τον κόσμο ως μπαχαρικό (Solomou et al., 2016). Η ρίγανη ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae/Labiatae* και πρόκειται για ένα πολυετές ποώδες φυτό που συναντάται σε παραμεσόγειες χώρες και αξιοποιείται παγκοσμίως σε πολλούς τομείς. Τουλάχιστον 61 είδη από τα 17 γένη που ανήκουν σε έξι οικογένειες αναφέρονται με την κοινή ονομασία ρίγανη.

Στην ρίγανη έχουν απομονωθεί πολλές χημικές ενώσεις με την σύστασή της να παρουσιάζει ποικίλες διαφορές μεταξύ των διαφορετικών γονότυπων. Αναφορές για διάφορα είδη ρίγανης έχουν δείξει ότι σε αφθονία βρίσκονται οι φλαβόνες και

ακολουθούν οι φλαβονόλες, φλαβανόνες ως υποομάδες των φλαβονοειδών. Μεταξύ των πιο κοινών φαινολικών οξέων έχουν εντοπιστεί το υδροξυκιναμωμικό οξύ και τα παράγωγα υδροξυβενζοϊκού οξέος. Επιπλέον μεμονωμένα συστατικά που έχουν βρεθεί σε άλλα είδη περιλαμβάνουν το ροσμαρινικό οξύ, την απιγενίνη, λουτεολίνη, κερσετίνη, σκουτελλαρεΐνη και τα παράγωγά τους. (Gutiérrez-Grijalva *et al.*, 2017).

Άλλες φαινολικές ουσίες που έχουν ανιχνευτεί στην ρίγανη περιλαμβάνουν το καφεϊκό οξύ, την λουτεολίνη, απιγενίνη, εριοδικτυόλη, διυδροξυκαμφερόλη και την διυδροξικερκيتينή. Σε υδροαιθανολικά εκχυλίσματα ελληνικής ρίγανης έχουν εντοπιστεί πέντε ενώσεις φαινολικών οξέων περιλαμβανομένων το πρωτεκατεχικό, καφεϊκό, χλωρογόνο, ροσμαρινικό και λιθοσπερμικό οξύ. Επίσης φλαβονοειδείς ενώσεις περιλάμβαναν την λουτεολίνη, 7-Ο γλυκοσίδη και την ναριγγίνη, κατεχίνη ισοβιτεξίνη (Kosakowska *et al.*, 2017).

Στον παρακάτω πίνακα απεικονίζονται φλαβονοειδή που έχουν εντοπιστεί σε εκχυλίσματα ελληνικής ρίγανης συγκριτικά με την κοινή ρίγανη, ονομασία που αποτελεί τον μόνο εκπρόσωπο του γένους σε περιοχές της Βόρειας και Κεντρικής Ευρώπης.

Πίνακας 1.2 Χημική σύνθεση των φαινολικών οξέων και φλαβονοειδών σε υδροαιθανολικά εκχυλίσματα ($mg \times 100 g^{-1}$) (Kosakowska *et al.*, 2017)

Συστατικά	Ελληνική ρίγανη	Κοινή εμπορική ρίγανη
Φαινολικά οξέα		
Πρωτοκαχενικό οξύ	35.78 ± 0.24	99.66 ± 0.51
Καφεϊκό οξύ	98.55 ± 1.28	91.98 ± 0.72
Χλωρογενικό Οξύ	56.81 ± 0.90	n.d
Ροσμαρινικό Οξύ	10809.37 ± 552.32	8260.68 ± 69.61
Λιθοσπερμικό Οξύ B	7065.67 ± 39.94	n.d
Ολικά	18066.18	8452.32
Φλαβονοειδή		
Λουτεολίνη	611.68 ± 1.88	862.16 ± 6.49
Απιγενίνη	81.73 ± 1.18	75.77 ± 0.40

Ναριγγίνη	451.46 ± 5.27	1196.02 ± 8.14
Ισοβιτεξίνη	273.44 ± 1.89	n.d
Κατεχίνη	14.68 ± 1.07	10.08 ± 0.30
Επικατεχίνη	196.74 ± 0.31	51.47 ± 0.60
Ολικά	1629.73	2195.5

Τα αιθέρια έλαια της ρίγανης είναι επίσης πλούσια σε φαινολικά συστατικά. Σε υψηλή περιεκτικότητα εντοπίζονται τα μονοτερπενοειδή και ακολουθεί σε χαμηλότερη περιεκτικότητα η θυμόλη. Συνήθως στα είδη *Origanum* ανιχνεύονται και άκυκλα μονοτερπενοειδή όπως η γερανιόλη και η λιναλοόλη.

Η ρίγανη στην βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιείται με την μορφή λαδιού ρίγανης ή ρητίνης ρίγανης ενώ έχει αναφερθεί και η χρήση της στα καλλυντικά. Εφαρμογές του λαδιού ρίγανης περιλαμβάνουν τα αλκοολούχα ποτά, αρτοσκευάσματα, κρέατα και προϊόντα κρέατος, καρυκεύματα, γαλακτοκομικά προϊόντα, επεξεργασμένα λαχανικά, σνακ, λίπη και έλαια. Επίσης χρησιμοποιείται και ως αντιοξειδωτικό πρόσθετο σε ορισμένα τρόφιμα όπως η μαγιονέζα, ιδιότητα η οποία οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητά της σε καρβακρόλη καθώς και φαινολικές ενώσεις, όπως τα φλαβονοειδή (Kintzios, 2012).

Λεβάντα (*Lavandula angustifolia*)

Η λεβάντα ως θάμνος ανήκει επίσης στην οικογένεια Lamiaceae/Labiatae, εντοπίζεται κυρίως στην περιοχή της Μεσογείου (Γαλλία, Ισπανία, Ανδόρα, Ιταλία) και ταξινομείται σε 25 είδη. Τα τρία κυριότερα είδη λεβάντας περιλαμβάνουν την *Lavandula angustifolia* Mill. (κοινή λεβάντα), *Lavandula stoechas* (γαλλική λεβάντα), *Lavandula latifolia* (πλατύφυλλη λεβάντα) καθώς και τα υβρίδια φυτά τους. Η λεβάντα ανήκει στην κατηγορία των πιο δημοφιλών βοτάνων με την υψηλή περιεκτικότητα σε βιολογικά δραστικές ουσίες και κυρίως την ομάδα των πολυφαινόλων. Οι πολυφαινόλες εντοπίζονται σε εκχυλίσματα που λαμβάνονται από το συγκεκριμένο φυτό καθώς και στο αιθέριο έλαιο της (Prusinowska and Śmigielski, 2014).

Μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί σε εκχύλισμα οξικού μεθυλεστέρα της λεβάντας έχει δείξει την υψηλή αντιβακτηριακή δράση έναντι βακτηριακών

στελεχών,συγκριτικά με εκχυλίσματα λεβάντας σε άλλους οργανικούς διαλύτες, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη διαφορά της χημικής σύνθεσης των συγκεκριμένων εκχυλισμάτων. Οι παραλλαγές στην χημική σύνθεση των εκχυλισμάτων οφείλονται στους διαφορετικούς διαλύτες εκχύλισης, την εποχή και την παρουσία δευτερογενών μεταβολιτών (*Slavon et al., 2018*)

Στα εκχυλίσματα λεβάντας έχουν εντοπιστεί σημαντικές ποσότητες φαινολικών συστατικών συμπεριλαμβανομένων των τερπενίων, μονοτερπενίων, σεσκιτερπενίων και διτερπενίων καθώς και άλλες φαινολικές ενώσεις που παρουσιάζουν αντιμικροβιακή δράση. Επίσης, οι πολυφαινολικές ενώσεις που εντοπίζονται στα εκχυλίσματα σχετίζονται με τις αντιοξειδωτικές ιδιότητες που παρουσιάζουν (*Slavon et al., 2018*). Οι συγκεκριμένες ιδιότητες θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν με επιτυχία για τη θεραπεία πολλών ασθενειών που προκαλούνται από βακτηριακές λοιμώξεις. Αυτό μπορεί να υποδεικνύει ότι τα είδη λεβάντας που χρησιμοποιούνται σε παραδοσιακές θεραπείες μπορεί να έχουν ευεργετική βιολογική δραστηριότητα. Για το λόγο αυτό έχει προταθεί η πιθανή χρήση των ριζών, στελεχών, φύλλων και λουλουδιών του *L. rubescens* σε εφαρμογές παραδοσιακής βοτανοθεραπείας (*Parketal.,2019*).

Το αιθέριο έλαιο της αποτελεί μια από τις πιο πολύτιμες ουσίες που μπορεί να ληφθεί από το φυτό της λεβάντας, υπάρχει σε ποσοστό 2-3% και περιέχει ουσίες όπως τα μονοτερπενικές αλκοόλες, λιναλοόλη, οξικό λιναλυλεστέρας, παράγωγα κουμαρινών, φλαβονοειδή, στερόλες, ίχνη τριτερπενίων, ταννίνες και φαινολικά οξέατης λεβάντας που χρησιμοποιείται κυρίως στην αρωματοποιία και την σαπωνοποιία περιέχει. Τα συγκεκριμένα συστατικά του προσδίδουν αντισηπτικές και επουλωτικές ιδιότητες ενώ βοηθά και στην αντιμετώπιση συμπτωμάτων του βήχα και της γρίπης (*Χαλκάκης, 2021*). Το υλικό που χρησιμοποιείται για την αξιοποίηση των βιοδραστικών συστατικών περιλαμβάνει κυρίως τα άνθη λεβάντας (*Lavandulafloures*) που περιέχουν αιθέριο έλαιο (3%), ανθοκυανίνες, φυτοστερόλες, σάκχαρα, μέταλλα και ταννίνες (*Prusinowska and Śmigielski, 2014*).

Επιπλέον χημικές ενώσεις που εντοπίζονται στο φυτό της λεβάντα περιλαμβάνουν το κουμαρικό οξύ, γλυκολικό οξύ, βαλερικό οξύ, ουρσολικό οξύ και την κουμαρίνη, περιεκτικότητα που παρουσιάζει διαφορά ανάλογα με την ποικιλία λεβάντας (*Prusinowska and Śmigielski, 2014*).

Άγριο τριαντάφυλλο

Το άγριο τριαντάφυλλο ανήκει στην οικογένεια Rosaceae και χρονολογείται ως ένα από τα αρχαία φυτά. Στην οικογένεια Rosaceae ανήκουν είδη όπως *R. damascene*, *R. canina*, *R. rugosa*, *R. multiflora*, *R. rugosa* and *R. laevigata* (Chenga et al., 2016; Boskabady et al., 2011).

Το τριαντάφυλλο της Δαμασκού (*Rosa damascena*) ανήκει στο γένος *Rosa*, το οποίο περιέχει 200 είδη και περισσότερες από 18.000 ποικιλίες. Ονομάζεται τριαντάφυλλο Δαμασκού γιατί προέρχεται από τη Δαμασκό της Μέσης Ανατολής, ενώ καλλιεργείται επίσης και στη Βουλγαρία, Γαλλία, Ιταλία, Τουρκία, Ιράν και Ινδία. Έχει συνήθως 1-2 μέτρα ύψος και μεγάλα πολύχρωμα άνθη, τα οποία ανθίζουν για περίπου 40 ημέρες από τον Μάιο έως τον Ιούνιο. Τα λουλούδια συλλέγονται φρέσκα τις πρώτες πρωινές ώρες αυτής της περιόδου, αποστάζονται, συνήθως, με υδροαπόσταξη για παραγωγή αιθέριου ελαίου και ροδόνηρου (Alizadeh and Fattahi, 2021; Chroho et al., 2022).

Το φυτό αυτό χρησιμοποιείται κυρίως στη βιομηχανία φαρμάκων, αρωμάτων και στη βιομηχανία τροφίμων την παραγωγή αιθέριου ελαίου και ροδόνηρου. Χρησιμοποιείται επίσης στη θεραπεία της δυσκοιλιότητας και των πεπτικών διαταραχών, των ηπατικών παθήσεων, του κοιλιακού πόνου, των φλεγμονών και των αναπνευστικών προβλημάτων (Alizadeh and Fattahi, 2021; Chroho et al., 2022).

Επιπλέον, το τριαντάφυλλο της Δαμασκού είναι μια ισχυρή πηγή αντιοξειδωτικών, όπως φαινολικά, флаβονοειδή, καροτενοειδή και ανθοκυανίνες. Οι φαινολικές ενώσεις που έχουν ανιχνευτεί στα διάφορα είδη *Rosa* συμπεριλαμβάνουν ταννίνες, флаβονοειδή, φαινολικά οξέα και ανθοκυανίνες. Οι συγκεντρώσεις των παραπάνω ουσιών διαφέρουν ανάλογα με την ποικιλία του φυτού (Koczka et al., 2018). Συγκεκριμένα για το είδος *Rosa damascena*, αρκετές είναι οι μελέτες που έχουν αναφερθεί στις αντιοξειδωτικές και αντιβακτηριακές ιδιότητες εκχυλισμάτων από άνθη του (Chroho et al., 2022; Nayebi et al., 2017; Ramdan et al., 2021). Οι Chroho et al., 2022 σε μελέτη τους ταυτοποίησαν συνολικά 16 φαινολικές ενώσεις που ανήκουν στις ταννίνες και στα флаβονοειδή. Οι ουσίες που ανιχνεύτηκαν σε μεγαλύτερες ποσότητες είναι η καμφορόλη, η βαλανοκετόνη και το ελλαγικό οξύ.

1.2 Χρήσεις αρωματικών φυτών

Η συνεχόμενη αύξηση του πληθυσμού αυξάνει συνεχώς και τις απαιτήσεις της βιομηχανίας των τροφίμων. Τα αρωματικά φυτά φαίνεται να μπορούν να αποτελέσουν μια σημαντική πρώτη ύλη για τη βιομηχανία τροφίμων λόγω της πληθώρας των χρήσεων τους.

Τα αρωματικά φυτά μπορούν να χωριστούν σε ομάδες ανάλογα με την χρήση τους :

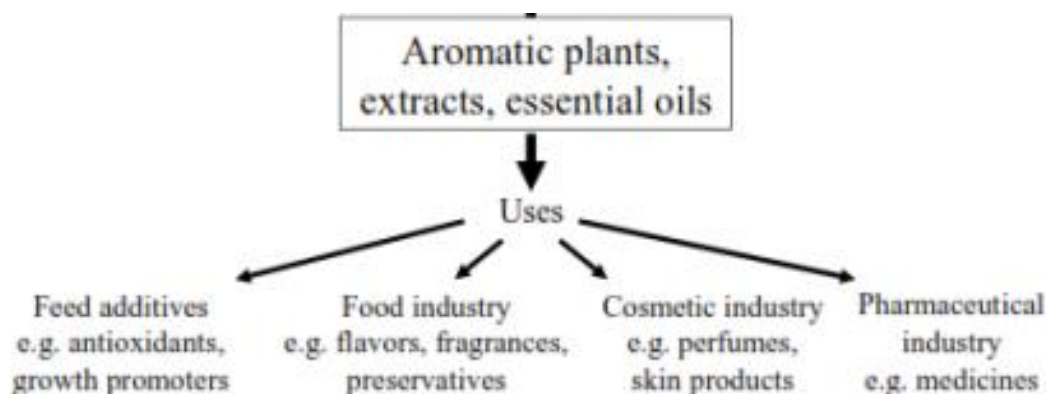
- I. Ως πρώτες ύλες για την εκχύλιση αιθέριων ελαίων όπου αποτελεί και την κυρίαρχη χρήση
- II. Ως μαγειρικά μπαχαρικά όπου χρησιμοποιούνται τα φυλλώδη και μη φυλλώδη μέρη ως αρωματικές πρώτες ύλες ή καρυκεύματα.
- III. Ως φαρμακευτικά συστατικά
- IV. Ως εκχυλίσματα που χρησιμοποιούνται ως συστατικά καλλυντικών, βαφών, φυτοφαρμάκων, τροφίμων, κ.α (Solomouetal., 2016).

Οι σημαντικότερες βιομηχανίες στις οποίες χρησιμοποιούνται τα αρωματικά φυτά και παράγωγά τους περιλαμβάνουν την βιομηχανία τροφίμων, την φαρμακοβιομηχανία, τα καλλυντικά και την αρωματοποιία. Πιο συγκεκριμένα, στην βιομηχανία τροφίμων τα αρωματικά φυτά συσκευάζονται σε φακελάκια όπου περιέχονται σε αποξηραμένη μορφή τα βότανα σε μορφή ξηρής δρόγης ή ως έτοιμα ροφήματα. Τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα αρωματικά φυτά είναι το τσάι του βουνού, το φασκόμηλο, το χαμομήλι και η λουίζα. Αρωματικά φυτά όπως η ρίγανη, το δεντρολίβανο, ο βασιλικός και ο δυόσμος χρησιμοποιούνται ως ενισχυτικά γεύσης και αρώματος στη βιομηχανία τροφίμων. Επίσης διαθέτουν αντιμικροβιακές ιδιότητες δρώντας ως φυσικά συντηρητικά και καθυστερώντας την οξειδωτική τάγγιση (Κάλφας, 2018; Christaki et al., 2020).

Επιπλέον διαθέτουν ουσίες που αξιοποιούνται για τον χρωματισμό των τροφίμων δρώντας ως φυτικές χρωστικές. Τέτοιες ουσίες είναι η κουρκουμίνη, οι ριβοφλαβίνες η γλωροφύλλη και άλλες. Με τον τρόπο αυτό προσδίδεται στα τρόφιμα το επιθυμητό χρώμα χωρίς να είναι απαραίτητη η χρήση χημικών ουσιών (Κάλφας, 2018). Τέλος τα αρωματικά φυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως λειτουργικά συστατικά λόγω του υψηλού περιεχομένου τους σε βιοδραστικές ενώσεις, όπως τα

καροτενοειδή, οι πολυφαινόλες, κ.ά. Τα προϊόντα που περιλαμβάνουν βιοδραστικές ενώσεις αρωματικών φυτών, πρόκειται για τρόφιμα που μπορούν να συμβάλλουν στη βελτίωση της υγείας, και της πρόληψης ασθενειών (Christaki *et al.*, 2020; Κάλφας, 2018).

Στην εικόνα 1.1. συνοψίζονται οι χρήσεις των αρωματικών φυτών.



Εικόνα 1.1.: Χρήσεις των αρωματικών φυτών (Christaki *et al.*, 2012)

1.3 Βιοδραστικά συστατικά αρωματικών συστατικών

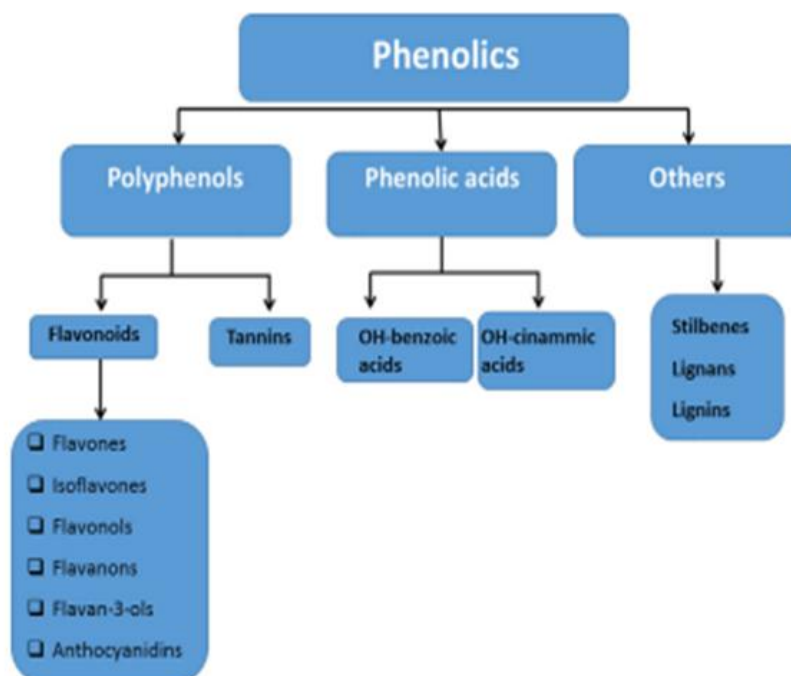
Το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για την χρήση ουσιών φυτικής προέλευσης στην βιομηχανία των τροφίμων οδήγησε στην επιλογή των αρωματικών φυτών, των εκχυλισμάτων και των αιθέριων ελαίων αυτών ως λειτουργικά συστατικά των παραγόμενων τροφίμων (Christaki *et al.*, 2020).

Τα αρωματικά φυτά έχουν την ικανότητα να παράγουν μια μεγάλη ποικιλία οργανικών συστατικών, τα οποία ονομάζονται φυτοχημικά. Πρόκειται για δευτερογενείς μεταβολίτες, δηλαδή ουσίες που δεν συμμετέχουν στην φωτοσυνθετική ή μεταβολική διαδικασία, αλλά αποτελούν βασικά συστατικά των φυτών. Προστατεύουν τα φυτά από την ηλιακή ακτινοβολία, τους παθογόνους μικροοργανισμούς και παράλληλα ενισχύουν διάφορες ιδιότητες όπως το χρώμα και την γεύση. Τα βιοδραστικά συστατικά τους δεν αποτελούν μεμονωμένες ενώσεις αλλά μίγματα ουσιών. Στο ευρύ φάσμα χημικών ενώσεων που περιλαμβάνονται στα

αρωματικά φυτά είναι οι υδρογονάνθρακες, οι εστέρες, τα τερπένια, οι λακτόνες, οι φαινόλες, οι αλδεΐδες, τα οξέα, οι αλκοόλες και οι κετόνες, με τις φαινολικές ενώσεις να αποτελούν την κύρια ομάδα των φυτοχημικών συστατικών (Manousi *etal.*, 2019; Christaki *etal.*, 2020).

- **Φαινολικά συστατικά**

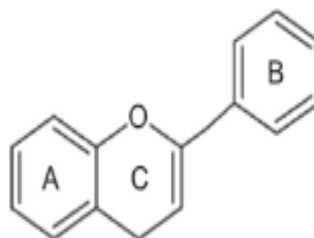
Με τον όρο φαινόλες αναφέρονται οι χημικές ενώσεις που αποτελούνται από έναν τουλάχιστον αρωματικό δακτύλιο, ο οποίος μπορεί να διαθέτει έναν ή περισσότερους υδροξυλικούς υποκαταστάτες -OH (Christaki *etal.*, 2020). Μέσω των αντιδράσεων συμπύκνωσης, προσθήκης πολυμερισμού του βασικού αρωματικού δακτυλίου, προκύπτει ένας μεγάλος αριθμός παραγώγων. Τα φαινολικά συστατικά μπορούν να διαχωριστούν σε μικρότερες ομάδες, τις πολυφαινόλες που μπορούν να χωριστούν περαιτέρω σε άλλες ενώσεις, τις φλαβόνες, φλαβανόλες, ισοφλαβόνες, ανθοκυανίνες, τα φαινολικά οξέα, και σε άλλες ενώσεις όπως τις λιγνάνες, τα στυλβένια και ακολούθως μπορούν να χωριστούν ξανά όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.2 (Costa *etal.*, 2015; Christaki *etal.*, 2020).



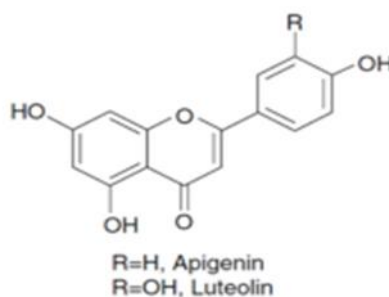
Εικόνα 1.2: Ταξινόμηση φαινολικών ενώσεων (Manousi *etal.*, 2019)

- **Φλαβονοειδή**

Πρόκειται για μόρια χαμηλού μοριακού βάρους που σχηματίζουν ένα ανθρακικό σκελετό 15 ατόμων άνθρακα που διατάσσονται σε δύο αρωματικούς δακτυλίους (A και B) και ενώνονται με μια γέφυρα τριών ανθράκων όπως αποτυπώνεται στην Εικόνα 1.3, 1.4 (Campos, 2018). Τα φλαβονοειδή που αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα με την σειρά τους μπορούν να ταξινομηθούν σε μικρότερες υποομάδες τις φλαβόνες, φλαβονόλες, φλαβανόνες και φλαβανόλες ανάλογα με την παρουσία ή μη ορισμένων ομάδων στη βασική δομή τους. Επίσης διακρίνονται και στις ανθοκυανίνες και τα ισοφλαβονοειδή που παρουσιάζουν διαφορετικές αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριακές, αντικές και αντικαρκινικές δράσεις (Campos, 2018).



Εικόνα 1.3: Γενική δομή φλαβονοειδούς (Campos, 2018)



Εικόνα 1.4.: Γενική δομή κύριων φλαβονών (Pintoetal.,2021)

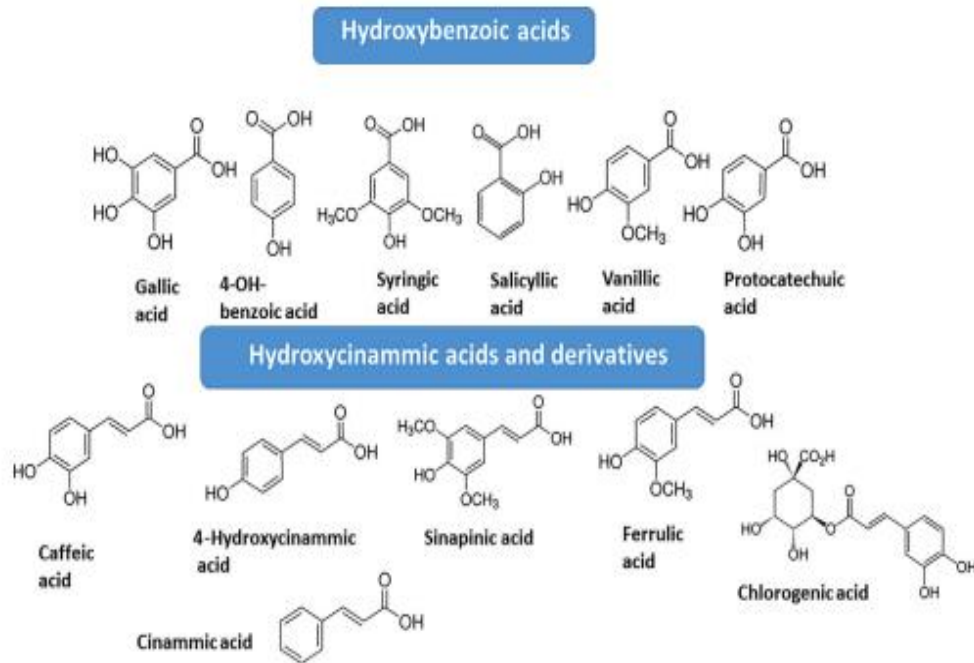
- **Ταννίνες**

Οι ταννίνες είναι ενώσεις μέσου ως υψηλού μοριακού βάρους με βασικό χαρακτηριστικό ότι αποτελούν ολιγο- και πολυμερή των πολυφαινολών. Διακρίνονται σε υδρολυμένες και συμπυκνωμένες. Στο μόριο τους φέρουν πολλές υδροξυλικές ομάδες και έτσι καθίσταται δυνατός ο σχηματισμός αδιάλυτων συμπλόκων με πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες (Μακρής, 2019). Χαρακτηριστικό των υδρολυμένων ταννινών είναι ο γλυκοζιτικός δεσμός που σχηματίζουν με το μόριο σακχάρου

(γλυκόζη) ή πολυσακχαρίτη όπου τα περισσότερα υδροξύλια βρίσκονται εστεροποιημένα με φαινολικά οξέα όπως το γαλλικό και ελλαγικό οξύ. Αντίθετα οι συμπυκνωμένες ταννίνες αποτελούν μια ομάδα ολιγομερών ή πολυμερών όπου τα μόρια των φλαβονοειδών ενώνονται με δεσμό άνθρακα-άνθρακα και είναι γνωστές και ως προανθοκυανίνες. Κύριο χαρακτηριστικό τους, η ικανότητα καθυστέρησης στην απορρόφηση των υδατανθράκων και των λιπών με αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων LDL λιποπρωτεϊνών (Ασημομύτης και Βλαχάκη, 2021).

- **Φαινολικά οξέα**

Τα φαινολικά οξέα αποτελούν ένα σημαντικό κομμάτι φαινολικών συστατικών που υπάρχουν στους εδάδιμους φυτικούς ιστούς (Μακρής, 2019). Τα φαινολικά οξέα διαθέτουν τουλάχιστον έναν αρωματικό δακτύλιο όπου ένα άτομο υδρογόνου αντικαθίσταται από μια υδροξυλομάδα. και διαθέτουν το λιγότερο μια καρβοξυλομάδα. Διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες τα υδροξυβενζοϊκά και υδροξυκινναμικά οξέα (Campos, 2018; Pintoetal., 2021). Τα υδροξυκινναμικά οξέα βρίσκονται σε μεγαλύτερη αφθονία στα φυτά (Pintoetal., 2021). Πρόκειται για αρωματικές ενώσεις που διαθέτουν μια πλευρική ομάδα τριών ατόμων άνθρακα με κυριότερα φερουλικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, το π-κουμαρικό οξύ και το σιναπικό οξύ. Αντίστοιχα τα υδροβενζοϊκά εντοπίζονται κυρίως με την μορφή γλυκοζιτών ή ως εστέρες του τρυγικού, σικιμικού και κινναμικού οξέος με κυριότερες μορφές το π-υδροξυβενζοϊκό, το βανιλλικό και το πρωκατεχικό οξύ (Μακρής, 2019; Pintoetal., 2021).



Εικόνα 1.4: Χημική δομή υδροξυβενζοϊκών και υδροξυκινναμικών οξέων (Manousietal., 2019)

- **Τερπένια**

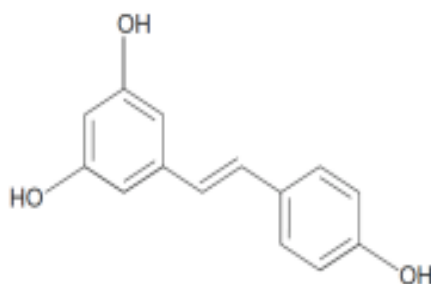
Τα τερπένια και τα τερπενοειδή (οξυγονωμένη μορφή) αποτελούν μια κατηγορία φυσικών προϊόντων που διαθέτουν μια ή περισσότερες μονάδες ισοπρενίου που συνδέονται μεταξύ τους με πολλούς συνδυασμούς. Μπορούν να χωριστούν ανάλογα με τις μονάδες ισοπρενίου που διαθέτουν, όπως ημιτερπένια, μονοτερπένια, σεσκιτερπένια, διτερπένια, σεστερπένια, τριτερπένια και τετρατερπένια (Christaki et al., 2020). Ωστόσο λόγω των χημικών ενώσεων που είναι ευρέως κατανεμημένες στα φυτά διακρίνονται κυρίως σε δύο μεγάλες ομάδες τα μονοτερπένια και σεσκιτερπένια ή ακανόνιστα τερπένια τα οποία μπορούν να συνταθούν κυρίες σε καταβολικές αντιδράσεις ή/και σε αντιδράσεις αυτοξειδωσης. (Pintos et al., 2021). Τα περισσότερα τερπένια παρουσιάζουν πολυκυκλική δομή. και η διαφορά μεταξύ τους παρατηρείται στο βασικό σκελετό (Firm, 2010).

Οι συγκεκριμένες βιοδραστικές ουσίες που συνήθως υπάρχουν σε μικρές ποσότητες στα αρωματικά φυτά και στα αιθέρια έλαιά τους επηρεάζονται από το μέρος του φυτού που εντοπίζονται καθώς και από την μέθοδο που εφαρμόζεται για την εκχύλιση τους (Christaki et al., 2020). Παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία διαφορετικών δομών γεγονός που αποδεικνύεται στις βιοδραστικές τους ιδιότητες αφού μπορούν να

χρησιμοποιηθούν ως φάρμακα, ενισχυτικά αρώματος και βελτιωτικά γεύσης (Firm, 2010).

- **Στιλβένια**

Τα στιλβένια αποτελούν μια ομάδα φαινολικών ενώσεων που έχουν παρόμοια χημική δομή με τα φλαβονοειδή αφού διαθέτουν δύο αρωματικούς δακτύλους που συνδέονται μεταξύ με μια αλυσίδα μεθανίου. Μια από τις πιο διαδεδομένες και πολυμελετημένες αρωματική ένωση στα στιλβένια είναι η trans-ρεσβερατρόλη. Η ρεσβερατρόλη είναι μια φυτοαλεξίνη, που παράγεται από φυτά με σκοπό την προστασία του από παθογόνους μικροοργανισμούς η οποία παρουσιάζει διάφορες βιολογικές ιδιότητες συμπεριλαμβανομένων της μείωσης του σχηματισμού αθηροσκληρωτικής πλάκας, αντιφλεγμονώδης, αντιοξειδωτικής, αντικαρκινογόνο και αντικής δράσης (Pintosetal., 2021).



Εικόνα 1.5: Χημική δομή ρεσβερατρόλη(Pintos et al., 2021).

- **Κουμαρίνες**

Οι κουμαρίνες αποτελούν μια μεγάλη κατηγορία παραγώγων που χαρακτηρίζονται από την ένωση δυο δακτυλίων, ενός βενζοϊκού που συνδέεται με ένα πυρονικό δακτύλιο, και εντοπίζονται είτε σε ελεύθερη είτε σε συνδυασμένη μορφή ως ετεροζίτες και γλυκοζίτεςσε ορισμένα φυτά. Οι περισσότερες από τις συγκεκριμένες ενώσεις απομονώνονται από τα φυτικά υλικά τα οποία περιέχουν χλωροφύλλη. Μπορούν να κατηγοριοποιηθούν περαιτέρω σε τέσσερις βασικούς τύπους : απλές κουμαρίνες, φουρανοκουμαρίνες, πυρανοκουμαρίνες που είναι παρόμοιες με τις φουρανοκουμαρίνες αλλά περιέχουν έναν εξαμελή δακτύλιο. και τέλος τις υποκατεστημένες στον πυρονικό δακτύλιο κουμαρίνες. Οι κυριότερες απλές

κουμαρίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση των φυτών σε βιοτικούς και αβιοτικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Γενικότερα έχει παρατηρηθεί ότι μέρη του φυτού που περιέχουν τουλάχιστον ένα τμήμα κουμαρίνης διαθέτουν εξαιρετικές βιολογικές δράσεις. Οι δράσεις των κουμαρινών ποικίλουν από αντιμικροβιακές αντιμυκητιακές, αντικές έως αντιπηκτικές και αντικαρκινικές, αντιβακτηριακές, αγγειοδιασταλτικές, αναλγητικές και αντιφλεγμονώδεις (Pintos *et al.*, 2021). Στο παρακάτω Πίνακα 1.3 περιγράφονται ενδεικτικά ορισμένα αρωματικά φυτά και τα φαινολικά συστατικά τους.

Πίνακας 1.3: Φαινολικές ενώσεις ορισμένων αρωματικών φυτών (mg/100 g φρέσκου βάρους) (Deligiannidou *et al.*, 2018; Kosakowska *et al.*, 2021; Pintos *et al.*, 2021).

Φαινολικά Συστατικά	Φασκόμηλο	Θυμάρι	Δεντρολίβανο	Εκχύλισμα Λεβάντα	Λεβάντα Αφέψημα	Ρίγανη
Βανιλικό οξύ	2.27 ± 0.48		1.73 ± 0.08			
Καφεϊκό οξύ	7.42 ± 0.35	11.7 ± 1.04	2.95 ± 0.12			
Λουτεολίνη	33.4 ± 1.32	39.5 ± 1.53				
Ροσμαρικό οξύ	117.8 ± 1.01	91.8 ± 2.75	32.8 ± 1.69			
Ισπιδουλίνη	16.3 ± 1.07	20.8 ± 0.96				
Cirsimaritin	14.3 ± 0.83		24.4 ± 0.87			
Καρνοσικό οξύ			126.6 ± 6.00			
Απιγγινίνη	2.4 ± 0.07		1.1 ± 0.15			
Ναριγγίνη			53.1 ± 2.09			
Ροσμανόλη			124.1 ± 3.19			
Total phenolic (mg of GAE/g of fresh weight)	1.34 ± 0.09		2.19 ± 0.15	35.232	22.768	
Φαινολικά Μονοτερπένια						39.79

- **Λιγνάνες**

Τέλος οι λιγνάνες ανήκουν και εκείνες στην ποικιλόμορφη ομάδα των φαινολικών ενώσεων. Οι λιγνάνες αποτελούν μια μεγάλη ομάδα φυσικών ενώσεων που προέρχονται από την βιοσυνθετική οδό του σικιμικού οξέος. Η δομή τους προκύπτει από την σύζευξη δύο μονάδων φαινυλοπροπανίου και τα μονομερή που σχηματίζουν τις λιγνάνες είναι το κινναμικό, η κινναμυλική αλκοόλη, το προπενυλοβενζόλιο και το αλλυλοβενζόλιο. (Cuietal., 2020).

Οι λιγνάνες είναι ευρέως διαδεδομένες στα φυτά και εντοπίζονται στις ρίζες, στο μόσχο στα φύλλα και στα άνθη. Συνήθως υπάρχουν ως διμερή αλλά μπορούν να υπάρξουν και ως τριμερή ή τετραμερή (Cuietal., 2020). Στα διάφορα μέρη των φυτών μπορούν να εντοπιστούν τόσο σε ελεύθερη μορφή όσο και σε συνδυασμένη μορφή ως παράγωγα γλυκοζίτη. Οι λιγνάνες βοηθούν σε διάφορες δομικές λειτουργίες των κυτταρικών μεμβρανών παρέχοντας ταυτόχρονα στα φυτά αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδη, αντιοξειδωτική και αντικαρκινική δράση (Pintosetal., 2021).

1.4 Βιοδραστικές ιδιότητες αρωματικών φυτών

Την τελευταία δεκαετία την ερευνητική προσοχή έχουν προσελκύσει οι ιδιότητες που παρουσιάζουν τα συστατικά των αρωματικών φυτών. Τα περισσότερα συστατικά των αρωματικών φυτών διαθέτουν σημαντικές ιδιότητες συμβάλλοντας τόσο σε αισθητηριακές όσο και σε λειτουργικές ιδιότητες. Παράλληλα η χρήση των εκχυλισμάτων τους, που είναι πλούσια σε βιοδραστικές ενώσεις, αποτελεί θεμέλιο για την συνεχή και επιτυχή ανάπτυξη υγιεινών και λειτουργικών τροφίμων ενώ έχει αποδειχθεί και η θετική επίδραση που μπορούν να έχουν στον ανθρώπινο οργανισμό (Christakietal., 2020).

Τα φαινολικά συστατικά που εντοπίζονται σε μεγαλύτερη περιεκτικότητα τόσο στα αρωματικά φυτά όσο και στα αιθέρια έλαια τους αποτελούν φυσικές και καλές πηγές αντιοξειδωτικών (Skottietal., 2013,; Christakiet.al., 2012,; Pintosetal., 2021). Η αντιοξειδωτική δράση τους αποδίδεται στην ικανότητα τους να δεσμεύουν ή/και να μειώνουν τις ρίζες υψηλής ενέργειας όπως είναι τα δραστικά είδη/μορφές οξυγόνου (ROS), να δρουν ως δέκτες ή δότες υδρογόνου, να δημιουργούν χηλικά σύμπλοκα, να

αναστείλουν ενζυμικά συστήματα που είναι υπεύθυνα για οξειδωτικές αντιδράσεις και να εξαλείφουν το οξυγόνο μέσω αποεντοπισμού ή αποσύνθεσης των υπεροξειδίων (Cheynier, 2012; Christaki et al., 2012). Με την ικανότητα της αποτροπής του οξειδωτικού στρες των κυττάρων μπορούν να συνεισφέρουν θετικά σε διάφορες ασθένειες όπως τα καρδιαγγειακά νοσήματα, οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες και ο καρκίνος. Πιθανόν ακόμη να βρίσκουν εφαρμογή στην θεραπεία αναπνευστικών και φλεγμονωδών διαταραχών, αλλεργιών και τέλος του διαβήτη (Christaki et al., 2012; Manousi et al. 2019).

Επιπλέον, έχει αναφερθεί η αντιμικροβιακή δράση των αρωματικών φυτών και των εκχυλισμάτων τους έναντι τροφιμογενών παθογόνων μικροοργανισμών και μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις. Ο αντιμικροβιακός έλεγχος της λεβάντας *Lavandula pubescens* έχει πραγματοποιηθεί σε πέντε διαφορετικούς οργανικούς διαλύτες. Την μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση έδειξε το εκχύλισμα οξικού αιθυλεστέρα έναντι των παρακάτω μικροοργανισμών: *Escherichia coli*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Cronobacter sakazakii*, *Aeromonas salmonicida*. Μεταξύ των εκχυλισμάτων από τα διάφορα μέρη του φυτού, το εκχύλισμα φύλλων παρουσίασε την πιο ισχυρή αντιβακτηριακή δράση έναντι όλων των βακτηριακών στελεχών, ακολουθούμενο από τα εκχυλίσματα από τα άνθη. Από την άλλη πλευρά, οι ρίζες δεν εμφάνισαν αντιμικροβιακή δράση. Η αντιμικροβιακή δράση αποδόθηκε στην ευρεία περιεκτικότητα του φυτού και των εκχυλισμάτων του σε ουσίες όπως τα τερπένια, συμπεριλαμβανομένων των μονοτερπενίων, sesquiterπενίων και διτερπενίων, καθώς και τις φαινολικές ενώσεις (Park et al., 2019).

Μέλετη που πραγματοποιήθηκε σε υδατο-αιθανολικά εκχυλίσματα Ελληνικής ρίγανης *Origanium vulgare L. subsp. hirtum* (Link) Ietswaart και κοινής ρίγανης *Origanium vulgare L. subsp. vulgare* έδειξε την αντιμικροβιακή δράση των φαινολικών οξέων και συγκεκριμένα του ροσμαρινικού οξέος. Το συγκεκριμένο οξύ έδειξε την ικανότητα ελέγχου της ανάπτυξης των μικροοργανισμών *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *Shigella spp.*, και *Enterobacter*. Παρατηρήθηκε ότι διαθέτει ανασταλτική δράση στις πρωτεΐνες της μικροβιακής επιφάνειας αναγνωρίζοντας τα μόρια της με αποτέλεσμα την πρόκληση βλάβης στο τοίχωμα των βακτηρίων. Επιπλέον, η παρουσία της καρβοξυλικής όξινης ομάδας επιτρέπει τον ιονισμό ή/και τον σχηματισμό αλάτων με ανόργανα κατιόντα. Με

παρόμοιο τρόπο φάνηκε να δρουν και τα άλλα φαινολικά οξέα (π.χ γλωρογενικού οξέος) που εντοπίστηκαν. Επίσης υψηλή αντιμικροβιακή δράση παρουσίασαν τα φλαβονοειδή, αναστέλλοντας την σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων, λειτουργίας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και τέλος προκαλώντας διαταραχές στον ενεργειακό μεταβολισμό των βακτηριακών κυττάρων (*Kosakowska et al.*, 2021).

Η αντιοξειδωτική δράση αντίστοιχα των εκχυλισμάτων διαφόρων ειδών ρίγανης εξαρτάται από τους διαλύτες εκχύλισης τους που φαίνεται να συσχετίζεται με τη απόδοση των φλαβονοειδών και φαινολικών οξέων. Μελέτη έχει δείξει ότι μεθανολικό εκχύλισμα ρίγανης έχει ισχυρή αντιοξειδωτική ικανότητα, γεγονός που αποδίδεται στην περιεκτικότητά τους σε φαινολικά όπως το ροσμαρινικό οξύ, το καφεϊκό οξύ, η ρουτίνη, το γαλλικό οξύ, η κερσετίνη και το π-κουμαρικό οξύ.

Στις βιοδραστικές ιδιότητες των αρωματικών φυτών και των εκχυλισμάτων τους περιλαμβάνονται και η αντιφλεγμονώδη, αναλγητική, αντιπυρετική, αντιμυκητιακή και αντισηπτική δράση τους (*Pintosetal.*, 2021). Τέλος έχει αναφερθεί η χρήση των αρωματικών φυτών και των παραγώγων τους ως συμπληρώματα διατροφής με σκοπό την αντιμικροβιακή, ανοσοδιεγερτική αντιοξειδωτική δράση καθώς το άρωμα και την συντήρηση κυρίως στην διατροφή των ζώων (*Christaki et al.*, 2012).

1.5 Αξιοποίηση Βιοδραστικών Συστατικών στην Βιομηχανία: Τεχνικές διαχείρισης και πιθανές χρήσεις παραπροϊόντων των αρωματικών φυτών

Κάθε χρόνο περίπου το 1/3 της παγκόσμιας παραγωγής τροφίμων για ανθρώπινη κατανάλωση δεν καταναλώνεται και απορρίπτεται. Τα παραπροϊόντα τροφίμων μπορεί να αποτελούν προϊόντα απόρριψης που προκύπτουν από την επεξεργασία ζώων ή αλιευμάτων, απόβλητα γαλακτοκομικών προϊόντων ή εναπομείναντα μέρη της επεξεργασίας τροφίμων φυτικής προέλευσης, όπου περιλαμβάνονται φλούδες, μίσχοι, σπόροι, πίτυρα κ.α. (*Παπαγιάννη*, 2022). Συνήθως τα παραπροϊόντα τροφίμων είναι πλούσια σε βιοδραστικές ενώσεις υψηλής θρεπτικής αξίας. Οι βιοδραστικές ενώσεις που μπορεί να περιέχονται σε παραπροϊόντα τροφίμων είναι οι φαινολικές ενώσεις, τα καροτενοειδή, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, οι βιταμίνες και οι φυσικές χρωστικές (*Comunian, et al.*, 2021).

Στην αγροτική βιομηχανία κάθε χρόνο παράγεται ένα μεγάλο ποσοστό υπολειμματικής βιομάζας σε στερεή, υγρή ή/και αέρια μορφή που αποτελεί βιολογικό υλικό το οποίο δεν παράγεται σκόπιμα σε μια παραγωγική μονάδα. Η υπολειμματική βιομάζα που προκύπτει μετά την απόσταξη των αρωματικών φυτών μπορεί να αξιοποιηθεί μέσω εκχύλισης, υδρόλυσης, πυρόλυσης και ζύμωσης (*SahaaandBasak, 2019*).

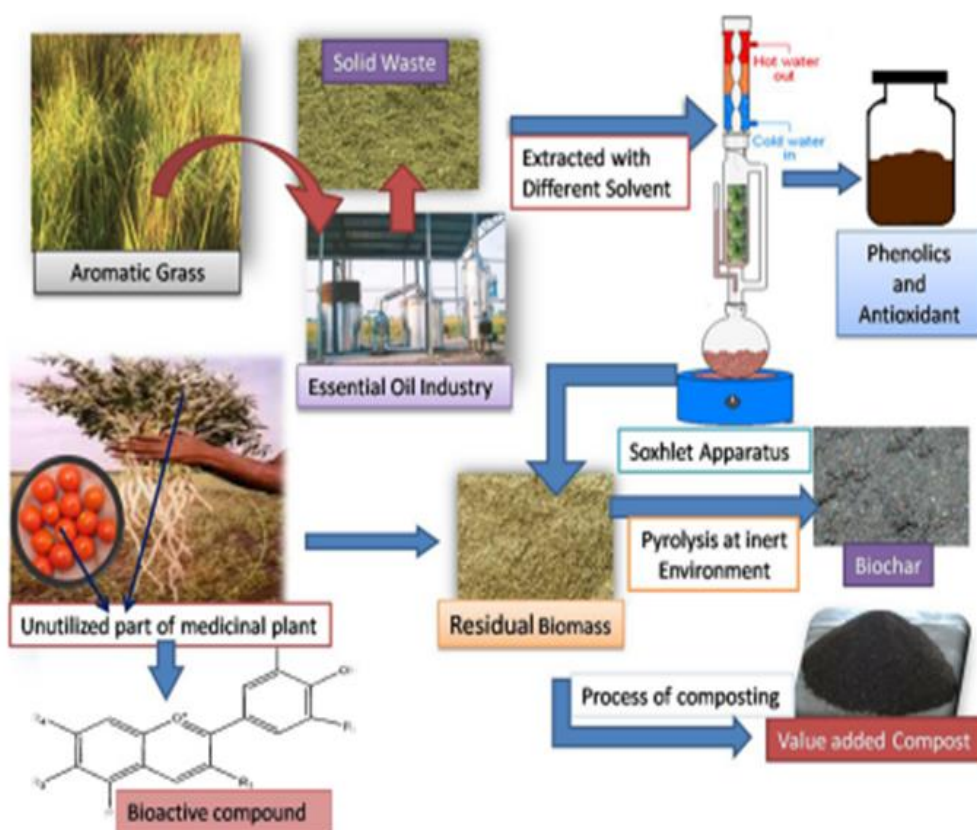
Η βιομάζα των αρωματικών φυτών μπορεί να αξιοποιηθεί ως πηγή βιοδραστικών φαινολικών και αντιοξειδωτικών ουσιών (*Yarinetal.,2022*). Μπορούν να δράσουν ως φυσικά αντιοξειδωτικά σε τρόφιμα, ζωοτροφές ή ως άλλα βιοδραστικά συστατικά σε φάρμακα και καλλυντικά (*SahaaandBasak,2019*). Αν και έχει αναφερθεί μειωμένη αντιοξειδωτική ιδιότητα στα απόβλητα συγκριτικά με το αρχικό φυτό με την απόσταξη ή την εκχύλιση εκείνων, μπορούν να ανακτηθούν σημαντικές ποσότητες των συστατικών αυτών (*Yarinetal.,2022*).

Το υπολειμματικό μέρος που παράγεται με την εκχύλιση εκείνων είναι πλούσιο σε φυτικές ίνες συμπεριλαμβανομένων την κυτταρίνη, την ημικυτταρίνη, λινίνη και πυρίτιο με αποτέλεσμα να μπορεί να χρησιμοποιηθεί εύκολα ως ζωοτροφή (*Yarinetal., 2022*). Επιπλέον πηγή πολυφαινολικών ενώσεων μπορεί να αποτελέσει και το νερό που χρησιμοποιείται κατά την διαδικασία της ατμο/υδρο-απόσταξη φρέσκων αρωματικών βοτάνων. Το παραγόμενο υδρόλυμα περιέχει ουσίες όπως το καφεϊκό οξύ, τα φλαβονοειδή το ροσμαρινικό οξύ που έχουν αποδειχτεί ότι διαθέτουν επίσης αντιμυκητιακές και αντιβακτηριακές ιδιότητες (*SahaaandBasak, 2019,; Yarinetal 2022*).

Μια ακόμη μορφή αξιοποίησης της βιομάζας των αρωματικών φυτών είναι η χρήση τους ως βιοπροσροφητικό. Τα υπολείμματα που προκύπτουν ως γεωργικά απόβλητα χρησιμοποιούνται ως δυνητικό προσροφητικό για τον καθαρισμό των τοξικών ενώσεων από το νερό (π.χ μέταλλα). Διαθέτουν ενώσεις με ομάδες υδροξυλίου συνδυαστικά με θειικές, φωσφορικές και αμινομάδες με αποτέλεσμα την δέσμευση των μεταλλικών ιόντων (*SahaaandBasak, 2019*). Τέλος με την διαδικασία της κομποστοποίησης τα οργανικά απόβλητα μετατρέπονται με την συμβολή των μικροοργανισμών υπό τις κατάλληλες συνθήκες αερισμού και υγρασίας σε μια ουσία υψηλής αξίας για το έδαφος ουσίες Συγκεκριμένα πραγματοποιείται μετατροπή των συνθετικών βιολογικών συστατικών που προέρχονται από τα αρωματικά φυτά όπως

είναι η λιγνίνη, η κυτταρίνη, η ημικυτταρίνη, οι πολυσακχαρίτες, οι πρωτεΐνες σε διαθέσιμα θρεπτικά συστατικά (SahaaandBasak, 2020,; Yarinetal., 2022).

Στην Εικόνα 1.7 περιγράφονται οι διαδικασίες για την προστιθέμενη αξία στην υπολειμματική βιομάζα των αρωματικών φυτών.



Εικόνα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση προστιθέμενης αξίας υπολειμματικής βιομάζας αρωματικών φυτών (SahaaandBasak, 2019).

1.5.1 Απόβλητα ρίγανης (*Origanum vulgare*)

Η ελληνική ρίγανη έχει μελετηθεί αρκετά για τις αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, και αντιβακτηριακές ιδιότητες της. Σήμερα το ενδιαφέρον εστιάζεται στη βιοδραστικότητα και το αντιβακτηριακό δυναμικό των παραπροϊόντων απόσταξης των αιθέριων ελαίων της. Οι Bouloumprias et al., 2021 αξιολογήσαν *in vitro* τις αντιβακτηριακές και αντιοξειδωτικές δράσεις των αποβλήτων και συγκεκριμένα του υδρολύματος της *Origanum vulgare* που προκύπτει από την απόσταξη της και την πιθανότητα χρήση τους ως αντιμικροβιακές και βιοδραστικές ουσίες.

Η ενσωμάτωση των στερεών υπολειμμάτων ρίγανης μετά την απόσταξη με σκοπό τον έλεγχο της αντιβακτηριακής ικανότητας έδειξε ότι η ρίγανη ήταν αποτελεσματική έναντι πολλών βακτηρίων, και πιθανώς να μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πρόσθετα συστατικά σε διάφορα τρόφιμα. Παρουσιάστηκε αναστολή έναντι του *Listeria monocytogenes* ενώ τα Gram-αρνητικά βακτήρια *E. coli* και *S. Typhimurium* ήταν τα πιο ανθεκτικά λόγω της εξωτερικής μεμβράνης που διαθέτουν και αποτελείται από λιποπολυσακχαρίτες που περιορίζουν τη διάχυση υδρόφοβων ενώσεων. Επιπλέον οι αντιοξειδωτικές μελέτες έδειξαν ότι θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδραστικά υλικά. Γενικότερα η αποτελεσματικότητα τους υδρολύματος διαπιστώθηκε ότι οφείλεται στην υψηλή περιεκτικότητα του σε φαινολικά συστατικά (Bouloumpasietai.,2021).

Επίσης οι Sagdic, Ozturk και Tornuk, 2013 αναφέρουν τη χρήση του υδρολύματος ρίγανης ως φυσικό απολυμαντικό σε φρέσκα τρόφιμα χωρίς να παρουσιάζεται οργανοληπτικό, αισθητηριακό πρόβλημα ή/και πρόβλημα στη υγεία του καταναλωτή. Συγκεκριμένα η προσθήκη του σε φρέσκες ντομάτες και αγγούρια ανέστειλε αποτελεσματικά την δράση στελεχών του βακτηρίου *E.coli*.

1.5.2 Απόβλητα τριαντάφυλλου της Δαμασκού (*Rosa damascena*)

Οι Dinkova et al., 2022 μελέτησαν την αξιοποίηση παραπροϊόντων ροδοπέταλων για την εκχύλιση πολυφαινολικών ουσιών και πιθανή χρήση τους στη βιομηχανία φρούτων. Τα παραπροϊόντα ήταν πέταλα του φυτού *Rosa damascena* τα οποία προέκυψαν μετά την παραγωγή αιθέριου ελαίου. Η μέθοδος εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε ήταν η υποβοηθούμενη εκχύλιση με ένζυμα. Ανάμεσα στις 19 κύριες ενώσεις που αναλύθηκαν με υγρή χρωματογραφία ,φασματομετρία μάζας, ανιχνεύθηκαν 5 υδρολυόμενες ταννίνες και 14 φαβονόλες. Στη συνέχεια έγινε χρήση του εκχυλίσματος ροδοπέταλων σε άλειμμα (spread) φράουλας. Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η προσθήκη 0,5%, w/w εκχυλίσματος ενισχύει την ένταση χρώματος του spread φράουλας, καλύπτοντας έτσι την αυξανόμενη ζήτηση των καταναλωτών για υποκατάσταση των συνθετικών πρόσθετων τροφίμων από φυσικές εναλλακτικές πηγές.

Οι Giannakourou et al., 2019 μελέτησαν τη πιθανή χρήση υγρών παραπροϊόντων ρόδων για την βελτίωση των ποιοτικών χαρακτηριστικών και του

χρόνου ζωής ιχθυηρών. Τα παραπροϊόντα προέκυψαν μετά από βιομηχανική απόσταξη του φυτού *Rosa damascena*. Ο εμπλουτισμών των ιχθυηρών (λαβρακιού) έγινε με την τεχνική της ωσμωτικής αφυδάτωσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο εμποτισμός με φαινολικά συστατικά από το παραπροϊόν ρόδων οδήγησε σε υπερτετραπλάσια αύξηση της διάρκειας ζωής του λαβρακιού, σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα δείγματα.

1.5.3 Απόβλητα λεβάντας (*Lavandula angustifolia*)

Κατά την διαδικασία απόσταξης ή εκχύλισης των αιθέριων ελαίων παράγεται μεγάλη ποσότητα βιομάζας και για το λόγο αυτό είναι σημαντική η αξιοποίηση της. Μέχρι σήμερα συνηθέστερη τεχνική αξιοποίησης είναι η χρήση της ως κομποστοποιητή. Ωστόσο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί και ως υλικό για την ανάκτηση πολύτιμων υποπροϊόντων που θα μπορούσαν στην συνέχεια να αξιοποιηθούν στη βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών και αρωματοποιίας (Slavovetal., 2018). Εναλλακτικές τεχνικές που έχουν εφαρμοστεί περιλαμβάνουν την ζύμωση της αποσταγμένης λεβάντας και βιομετατροπή ενώσεων όπως τα τερπένια σε πολύτιμες και δύσκολα συντιθέμενες ουσίες. Επίσης έχουν απομονωθεί ουσίες με ισχυρή αντιοξειδωτική δράση (απιγενίνη, ροσμαρινικό οξύ, λουτεολίνη). Ακόμη έχει αναφερθεί η χρήση αιθανολικού εκχυλίσματος υπολειμμάτων λεβάντας για την πιθανή αντιμυκητιακή δράση (κατά του *Penicillium verrucosum* Dierckx), ενός κοινού μικροοργανισμού που προκαλεί απώλεια στην παραγωγή τυριού) (Lesage-Meessen et al. 2015).

Οι Slavovetal., 2018 μελέτησαν την αξιοποίηση την αποβλήτων που προκύπτουν από την διαδικασία της ατμοαπόσταξης των αιθέριων ελαίων λεβάντας. Συγκεκριμένα μελέτησαν δυο φυτικά απόβλητα, ένα εκχύλισμα από ατμοαποσταγμένη λεβάντα και ένα εκχύλισμα από υποκρίσιμη εκχύλιση με CO₂. Τα κύρια αρωματικά συστατικά που βρέθηκαν ήταν η λιναλοόλη και ο οξικός λιναλυλεστέρας σε ποσοστό 0,68% και 25,82%, αντίστοιχα. Η λιναλοόλη και ο οξικός λιναλυλεστέρας συμβάλλουν σημαντικά στη βιολογική δραστηριότητα των εκχυλισμάτων και συνεπώς των αποβλήτων, έχει διαπιστωθεί ότι αναστέλλουν την ανάπτυξη των *Ecoli*, *St. aureus*, *Pseudomonasaeruginosa*. Επιπλέον η λιναλοόλη έχει δείξει ισχυρή εντομοκτόνο, αντικαρκινική, αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακή δράση κατά του μικροοργανισμού

Yersiniaenterocolitica, και *Klebsiellapneumoniae* ενώ έχει χρησιμοποιηθεί στην ιατρική, τα τρόφιμα και στην φυτοπροστασία (Slavovetal., 2018).

Τα φλαβονοειδή επίσης ήταν υψηλότερα στα αιθανολικά εκχυλίσματα από την απόσταξη με ατμό ($3,72 \pm 0,20 \text{ mgxg}^{-1}$ υπολείμματος ξηράς ουσίας) συγκριτικά με το εκχύλισμα από την υπερκρίσιμη εκχύλιση με CO_2 ($2,91 \pm 0,11 \text{ mgxg}^{-1}$ υπολείμματος ξηράς ουσίας). Αντίστοιχα παρατηρήθηκε υψηλή περιεκτικότητα σε φαινολικά οξέα στο αιθανολικό εκχύλισμα $2,62 \pm 0,19 \text{ mgxg}^{-1}$ σε σύγκριση με $1,39 \pm 0,14 \text{ mgxg}^{-1}$ υπολείμματα ξηρής ύλης στη λεβάντα εκχυλισμένη με CO_2 . Υψηλή αντιοξειδωτική ικανότητα παρουσίασαν και τα δύο εκχυλίσματα με την προσθήκη τους στα τρόφιμα να είναι πολλά υποσχόμενη για την ευεργετική δράση τους. Αναφορές για την προσθήκη τους στα τρόφιμα περιλαμβάνουν το ψωμί όπου παρατηρήθηκε αύξηση της αντιοξειδωτικής και αντιβακτηριακής δράσης, αύξηση της περιεκτικότητας σε διαιτητικές ίνες ενώ φάνηκε να γίνεται αποδεκτό οργανοληπτικά αποδεκτό ψωμί με 2.5 % λεβάντα (Vasileva, etal., 2018).

Κεφάλαιο 2. Εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών αρωματικών φυτών

2.1. Απόσταξη αιθέριων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια αποτελούνται από πολύπλοκα μείγματα ενώσεων, εκ των οποίων κυριότερες είναι αυτές της οικογένειας των τερπενίων και ενώσεις με αρωματικό δακτύλιο (*Tonuttia and Liddle, 2010*). Η απόσταξη αιθέριων ελαίων βασίζεται στον διαχωρισμό των συστατικών ενός υγρού, με βάση τα διαφορετικά σημεία βρασμού τους. Οι τεχνικές απόσταξης χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες α) απόσταξη με νερού (water distillation), απόσταξη με ατμό (steam distillation) και απόσταξη με νερό και ατμό (water-steamdistillation)(*Munir, 2010*).

Η απόσταξη με νερό είναι η παλαιότερη και φθηνότερη μέθοδος απόσταξης, είναι απλή στο σχεδιασμό και εύκολη στην υλοποίηση. Γενικά χρησιμοποιείται για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από ξηρή ή κονιοποιημένη πρώτη ύλη, όπως σκόνες μπαχαρικών, λουλούδια (πχ ρόδα και άνθη πορτοκαλιού) κ.α. Βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η χρήση θερμοκρασιών μικρότερων των 100 °C (*Tongnuanchan and Benjakul, 2014*). Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι είναι ενεργειακά κοστοβόρα διαδικασία, παράγει χαμηλής ποιότητας έλαιο, δεν πραγματοποιείται πλήρης παραλαβή του αιθέριου ελαίου, απαιτείται εξειδικευμένο προσωπικό και μεγάλος αριθμός αποστάξεων (large numbers of stills are required as charge has to be less dense) (*Munir, 2010*).

Η απόσταξη με ατμό είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την εκχύλιση φυτικών αιθέριων ελαίων (*Tongnuanchan and Benjakul, 2014*). Χρησιμοποιείται για τα περισσότερα αιθέρια έλαια, εκτός από αυτά που προέρχονται από ευαίσθητα άνθη. Τα κύρια πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι η ποσότητα του ατμού που χρησιμοποιείται και η θερμοκρασία μπορούν να ελεγχθούν εύκολα, η υψηλή απόδοση (το ποσοστό των αιθέριων ελαίων που εξάγεται με απόσταξη ατμού είναι 93%), ότι η πιθανότητα να καεί ο φυτικός ιστός είναι πολύ μικρή και ότι παράγονται προϊόντα απαλλαγμένα από διαλύτες. Κύριο μειονέκτημα, είναι η μεγάλη παραγωγή μεγάλων όγκων παραπροϊόντων (wasteful Process) και η μόλυνση του περιβάλλοντος που προκαλεί και ότι είναι χρονοβόρα διαδικασία (1 με 5 ώρες) (*Kant and Kumar, 2022; Kapadia et al., 2022; Munir, 2010; Tongnuanchan and Benjakul, 2014*).

Η απόσταξη με νερό και ατμό (ή αλλιώς απόσταξη υδροατμοαπόσταξη) είναι μια μέθοδος που έχει χαρακτηριστικά και από τις δύο παραπάνω μεθόδους απόσταξης. Αυτός ο τύπος απόσταξης χρησιμοποιείται για πολλά είδη φυτικών ιστών όπως η λεβάντα, το θυμάρι και η μέντα. Πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι το γεγονός ότι δεν απαιτεί τη χρήση οργανικών διαλυτών και ότι παρέχει οικονομία χρόνου, σε σύγκριση με το σύστημα απόσταξης νερού. Στα μειονεκτήματα της υδρο-ατμοαπόσταξης περιλαμβάνεται η πιθανή καταστροφή κάποιων πτητικών συστατικών και κάποιων χρωστικών, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που χρησιμοποιούνται (θερμοκρασίες μεγαλύτερες του σημείου βρασμού του νερού). Επιπλέον, ο υγρός ατμός μπορεί να κάνει το κατώτερο στρώμα του φυτικού ιστού αρκετά υγρό και να επιβραδύνει τη διαδικασία (Munir, 2010; Ζάχος, 2020).

2.2. Εκχύλιση βιοδραστικών ουσιών αρωματικών φυτών

Τα τελευταία χρόνια η ζήτηση για ελάχιστα επεξεργασμένα, υγιεινά προϊόντα αυξάνεται διαρκώς. Οι παραδοσιακές τεχνικές εκχύλισης των αρωματικών φυτών βασίζονται κυρίως στη σωστή επιλογή διαλύτη και στη χρήση θερμότητας ή/και ανάδευσης για την αύξηση της διαλυτότητας των επιθυμητών ενώσεων και τη βελτίωση της μεταφοράς μάζας. Εδώ και πολλά χρόνια, η Soxhlet ήταν η πιο χρησιμοποιούμενη μέθοδος εκχύλισης από όλες τις άλλες συμβατικές τεχνικές (πχ εκχύλιση Soxhlet). Όμως οι τεχνικές αυτές συνήθως απαιτούν αρκετό χρόνο, γεγονός που θέτει σε κίνδυνο τα θερμοευαίσθητα συστατικά των φυτών. Άλλα μειονεκτήματα των παραδοσιακών τεχνικών είναι ότι ορισμένοι διαλύτες μπορεί να είναι τοξικοί και να αποτελούν κίνδυνο για τους καταναλωτές, τους χειριστές, αλλά και για το περιβάλλον. Για το λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί νέες, καινοτόμες διεργασίες για την επεξεργασία των τροφίμων, φιλικές προς το περιβάλλον και ενεργειακά αποδοτικές. Τέτοιες τεχνικές εκχύλισης είναι η εκχύλιση με μικροκύματα, η εκχύλιση με υπερκρίσιμα υγρά, εκχύλιση με υπερήχους κ.α., με ευρεία εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων (Calderón-Olivera and Ponce-Alquicira, 2021; Mehta et al., 2022; Shamset al., 2015).

2.2.1 Εκχύλιση με υπερήχους

Ο υπέρηχος είναι ηχητικό κύμα με συχνότητες υψηλότερες από το ανώτερο ακουστικό όριο της ανθρώπινης ακοής, δηλαδή 20 kHz (το εύρος του ανθρώπινου αυτιού είναι συνήθως μεταξύ 20 Hz και 20 kHz). Συνήθως, στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται συχνότητες από 20 έως 100 kHz και ισχύ από 10 έως 1000 W/cm² (Mehta *et al.*, 2022).

2.2.1.1. Μηχανισμός λειτουργίας

Η εκχύλιση με υπερήχους χρησιμοποιεί το φαινόμενο της ακουστικής σπηλαιώσης για να προκαλέσει διάρρηξη των κυτταρικών τοιχωμάτων, μείωση του μεγέθους των σωματιδίων και αύξηση της επαφής μεταξύ του διαλύτη και των ενώσεων-στόχων (Shams *et al.*, 2015). Τα κύματα υπερήχων έχουν ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό φυσαλίδων σπηλαιώσης (cavitation bubbles) μέσω μιας σειράς κύκλων συμπίεσης και αποσυμπίεσης. Το μέσο διάδοσης των κυμάτων μπορεί να είναι στερεό, υγρό ή αέριο (Calderón-Oliver and Ponce-Alquicira, 2021; Mehta *et al.*, 2022). Οι φυσαλίδες αυτές απορροφούν ενέργεια από τα ηχητικά κύματα και αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια των κύκλων αποσυμπίεσης, ενώ κατά τη διάρκεια των κύκλων συμπίεσης, επανασυμπιέζονται. Οι φυσαλίδες διασπώνται και επαναδημιουργούνται συνεχώς επιφέροντας αλλαγές στη δομή του μέσου διάδοσης (το δείγμα) (Ασημομύτης και Βλάχακη, 2021). Όταν οι φυσαλίδες ξεπεράσουν ένα ορισμένο μέγεθος, οδηγούνται σε βίαιη κατάρρευση, απελευθερώνοντας μεγάλες ποσότητες ενέργειας. Η συνεχής δημιουργία φυσαλίδων, ή προοδευτική αύξηση του μεγέθους τους και η βίαιη κατάρρευσή τους, απελευθερώνοντας ταυτόχρονα μεγάλα ποσά ενέργειας ονομάζεται ακουστική σπηλαιώση (Βελόπουλος, 2022).

Η σπηλαιώση δημιουργεί υψηλές διατμητικές τάσεις στο μέσο και η κατάρρευση των φυσαλίδων προκαλεί στροβιλισμό, ο οποίος οδηγεί σε υψηλές ταχύτητες σύγκρουσης στο στερεό υλικό. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μηχανική διάρρηξη του κυτταρικού τοιχώματος που απελευθερώνει το περιεχόμενό του, και την τοπική θέρμανση του υγρού αυξάνοντας τη διάχυση του εκχυλίσματος (Shams *et al.*, 2015). Γενικά, οι μηχανισμοί με τους οποίους δρουν οι υπέρηχοι, επηρεάζουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες των κυττάρων, με αποτέλεσμα την ενίσχυση των

φαινομένων μεταφοράς θερμότητας και μάζας. Έτσι, ενισχύονται και επιταχύνονται διεργασίες όπως οι εκχυλίσσεις από φυτικούς ιστούς, οι ενζυματικές αντιδράσεις κ.ά. (Βελόπουλος, 2022).

Γενικά υπάρχουν δύο συστήματα υπερήχων, ο αισθητήρας υπερήχων (ultrasonic probe system) (Εικόνα 2.1) και το λουτρό υπερήχων (ultrasonic cleaning bath) (Εικόνα 2.2). Σε εργαστηριακό επίπεδο συνήθως χρησιμοποιείται το λουτρό υπερήχων ενώ σε μεγαλύτερης κλίμακας εκχυλίσσεις, ο αισθητήρας υπερήχων (Shams et al., 2015).



Εικόνα 2.1: Αισθητήρας υπερήχων (Shams et al., 2015).



Εικόνα 2.2: Λουτρό υπερήχων (Shams et al., 2015).

Στο λουτρό υπερήχων, το δείγμα (στερεό ή υγρό) διασκορπίζεται στον διαλύτη απευθείας, μέσα στην ατσάλινη δεξαμενή. Η δεξαμενή είναι συνδεδεμένη με την πηγή των υπερηχητικών κυμάτων. Το λουτρό υπερήχων έχει κάποια μειονεκτήματα όπως ανομοιογένεια στην διάδοση της ενέργειας και μείωση της ισχύος με την πάροδο του χρόνου. Από την άλλη πλευρά, στον αισθητήρα υπερήχων η πηγή των κυμάτων είναι βυθισμένη απευθείας μέσα στην φιάλη που περιέχει τον διαλύτη και το δείγμα. Με την απευθείας παροχή ενέργειας στον διαλύτη επιτυγχάνει μηδαμινές απώλειες και πιο αποδοτική σπηλαιώση καθώς η ενέργεια εφαρμόζεται σε περιορισμένη περιοχή δείγματος. Ωστόσο, και στις δύο περιπτώσεις απαιτείται προεπεξεργασία της πρώτης ύλης, πχ αφυδάτωση (Ασημομάτης και Βλαχάκη, 2021).

2.2.1.2. Πλεονεκτήματα της μεθόδου έναντι άλλων τεχνικών εκχύλισης

Η εκχύλιση με υπερήχους (Ultrasound extraction - UAE) είναι μία τεχνική που χρησιμοποιείται ευρέως για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών από φυτά. Το κύριο πλεονέκτημα, έναντι των συμβατικών μεθόδων εκχύλισης, είναι οι χαμηλές θερμοκρασίες (κοντά σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος) που χρησιμοποιούνται κατά την εκχύλιση με υπερήχους. Το γεγονός αυτό μειώνει τις απώλειες των πτητικών και θερμοευαίσθητων συστατικών. Άλλα πλεονεκτήματα της μεθόδου έναντι της συμβατικής εκχύλισης, είναι ο μειωμένος χρόνος που απαιτείται, η υψηλή απόδοση της μεθόδου και η υψηλή καθαρότητα του τελικού προϊόντος, η μικρότερη κατανάλωση οργανικών διαλυτών και οι μικρές ποσότητες δείγματος που συνήθως απαιτούνται (Ahmad et al., 2022; Putra et al., 2022; Rodríguez-Mena et al., 2022; Roldán-Gutiérrez et al., 2008). Οι Roldán-Gutiérrez et al., 2008 σε έρευνα τους διαπίστωσαν ότι η εκχύλιση με υπερήχους ήταν 18 φορές ταχύτερη συγκριτικά με την εκχύλιση με ατμό (steam distillation). Η εκχύλιση με υπερήχους μπορεί να προσαρμοστεί τόσο σε μικρή όσο και σε μεγάλη κλίμακα (δηλαδή σε εργαστηριακή ή βιομηχανική κλίμακα) (Shamsetal., 2015). Επιπλέον, η χρήση των υπερήχων σε συχνότητες 20-24 kHz μπορεί να συμβάλλει στη μείωση του μικροβιακού φορτίου του τροφίμου, ειδικά όταν συνδυάζεται με άλλες τεχνικές επεξεργασίας, όπως είναι η πίεση και η θέρμανση (Βελόπουλος, 2022). Τέλος, συγκριτικά με τεχνικές όπως εκχύλιση με μικροκύματα (MAE) και η εκχύλιση με υπερκρίσιμα υγρά (SFE), οι υπέρηχοι έχουν απλούστερο

εξοπλισμό μειώνοντας έτσι το κόστος εκχύλισης, ενώ η απόδοση είναι ίδια ή και καλύτερη (Shams et al., 2015; Putra et al., 2022; Roldán-Gutiérrez et al., 2008).

Στον πίνακα που ακολουθεί (Πίνακας 2.1) αναγράφονται τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της εκχύλισης με υπερήχους, αλλά και άλλων μεθόδων εκχύλισης αντιοξειδωτικών ουσιών.

Πίνακας 2.1: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα τεχνικών εκχύλισης αρωματικών φυτών (Calderón-Oliver and Ponce-Alquicira, 2021; Shams et al., 2015).

Μέθοδος εκχύλισης	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Εκχύλιση Soxhlet	<ol style="list-style-type: none"> 1.Συνεχής επαφή του διαλύτη με το δείγμα 2.Χρήση υψηλών θερμοκρασιών 3.Δεν απαιτείται διήθηση του εκχυλίσματος. 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Δεν υπάρχει δυνατότητα ανάδευσης 2.Καταστροφή θερμοευαίσθητων συστατικών
Εκχύλιση με υπερήχους	<ol style="list-style-type: none"> 1.Χρήση χαμηλών θερμοκρασιών (συνήθως περιβάλλοντος) 2. Χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις 3.Χαμηλές απαιτήσεις σε όγκους διαλύτη 4.Μικροί χρόνοι εκχύλισης 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Δυσκολία στη βαθμονόμηση 2.Μειωμένη απόδοσή σε δείγματα με υψηλό ιξώδες 3.Δεν υπάρχει δυνατότητα επιλεκτικής εκχύλισης 4.Πιθανή μόλυνση από τον διαλύτη
Εκχύλιση με μικροκύματα	<ol style="list-style-type: none"> 1.Μικροί χρόνοι εκχύλισης (15-30 λεπτά) 2.Δεν είναι απαραίτητη η χρήση διαλύτη (εκτός του νερού) 3.Χαμηλή χρήση διαλυτών 4.Εύκολη προσαρμογή σε βιομηχανική κλίμακα 5.Χαμηλή κατανάλωση ενέργειας 6. Απελευθέρωση CO₂ σε χαμηλά επίπεδα στην ατμόσφαιρα 7.Δεν απαιτείται επαφή για τη μετάδοση θερμότητας 8.Επιταχύνει τη μεταφορά μάζας και ενέργειας 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Απαιτείται διαχωρισμός του διαλύτη 2. Μπορεί να επηρεάσει τους θερμοσταθερούς μεταβολίτες 3.Μπορεί να προκαλέσει οξείδωση 4.Δεν υπάρχει δυνατότητα επιλεκτικής εκχύλισης
Εκχύλιση με παλμικά ηλεκτρικά πεδία και εκχύλιση με χρήση ηλεκτρικών εκκενώσεων υψηλής τάσης	<ol style="list-style-type: none"> 1.Χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις 2.Συνεχούς λειτουργίας 3.Μικροί χρόνοι εκχύλισης 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Δυσκολία στη βαθμονόμηση 2.Πιθανή οξείδωση ενώσεων
Ενζυμικά υποβοηθούμενη εκχύλιση	<ol style="list-style-type: none"> 1.Εύκολη λειτουργία 2.Υψηλή εξειδίκευση (εάν η επιλογή των ενζύμων είναι σωστή) 3.Υψηλή απόδοση 4.Φιλική προς το περιβάλλον 	<ol style="list-style-type: none"> 1.Απαιτείται ταυτόχρονη ρύθμιση πολλών παραμέτρων, όπως το ένζυμο, η συγκέντρωση, το οξυγόνο, το pH, η θερμοκρασία και η ανάδευση

	5.Χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις 6.Χαμηλή θερμοκρασία λειτουργίας	2.Εύρεση συνθηκών εκχύλισης σε περίπτωση που απαιτείται η χρήση παραπάνω από ενός ενζύμου
Εκχύλιση με υψηλή υδροστατική πίεση	1.Χρήση χαμηλών θερμοκρασιών (ακόμα και θερμοκρασίες ψύξης) 2.Λιγότερη χρήση διαλυτών σε σύγκριση με τις τεχνικές που απαιτούν θερμότητα 3.Καλύτερη ποιότητα, αποτελεσματικότητα και βιολογική δραστηριότητα για εκχυλίσματα 4.Μειωμένοι χρόνοι εκχύλισης	1.Μπορεί να προάγει αντιδράσεις οξείδωσης 2.Σε βιομηχανικό επίπεδο είναι μια διαδικασία ημισυνεχούς λειτουργίας ή παρτίδας (batch process)
Εκχύλιση με βαθύς ευτηκτικούς διαλύτες	1.Βιοδιασπώμενα διαλύματα 2.Μη τοξική 3.Εύκολη προετοιμασία	1.Υψηλό κόστος βαθμονόμησης 2. Το τελικό διάλυμα έχει υψηλό ιξώδες και υψηλή πυκνότητα

2.2.1.3. Εκχύλιση φαινολικών και αντιοξειδωτικών ουσιών με τη μέθοδο των υπερήχων

Η εκχύλιση με υπερήχους χρησιμοποιείται ευρέως για την παραλαβή βιοδραστικών συστατικών, όπως φλαβονοειδών, πολυφαινολών, καροτενοειδών κ.λπ., από φυτικές πηγές (*Kazemi et al., 2016; Mehta et al., 2022; Mercado-Mercado et al., 2018*), λιπιδίων (*Natarajan et al., 2015*), πρωτεϊνών (*Rahman et al., 2021*), πολυσακχαριτών (*Chen et al., 2015; Zhang et al., 2016*), αιθέριων ελαίων (*Tekin et al., 2015*) κ.α.

Οι σημαντικότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τη εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών στη μέθοδο των υπερήχων είναι: 1) Η ισχύς των υπερήχων. Η ισχύς των υπερήχων κυμαίνεται από 0 έως 100% και εξαρτάται από την ισχύ του εξοπλισμού που χρησιμοποιείται. Σε εκχυλίσεις φυτικών ιστών, η ισχύς κυμαίνεται από 20-700W. Γενικά, η απόδοση της εκχύλισης αυξάνεται με αύξηση της ισχύος και αφού φτάσει στο μέγιστο, μειώνεται. 2) Ο διαλύτης που θα χρησιμοποιηθεί. Για την εκχύλιση με υπερήχους έχουν χρησιμοποιηθεί διαλύτες όπως νερό, αιθανόλη, ακετόνη, αλκοόλες κ.α. Οι αλκοόλες και η ακετόνη, σε συνδυασμό με νερό χρησιμοποιούνται ευρέως για την εκχύλιση φαινολικών συστατικών από φυτικούς ιστούς. Πιο συγκεκριμένα, η αιθανόλη λόγω της υψηλής της συγγένειας με τις φαινόλες αποτελεί την καλύτερη επιλογή για την εκχύλιση τους. Η αιθανόλη επιλέγεται επίσης επειδή είναι αρκετά οικονομική, παράγεται από ανανεώσιμη πηγή (σακχαροκάλαμο) και έχει χαρακτηριστεί ασφαλής (GRAS - generally recognized as safe) διαλύτης. 3) Η

αναλογία διαλύτη προς δείγμα. Η απόδοση της εκχύλισης αυξάνεται με αύξηση της αναλογίας διαλύτη/δείγματος και αφού φτάσει στο μέγιστο, μειώνεται. Η μικρή αναλογία διαλύτη/δείγματος επηρεάζει το ιζώδες του διαλύματος και δυσκολεύει την εκχύλιση. Αντίθετα, η μεγάλη αναλογία αυξάνει τη διαχυτικότητα και τη διάλυση του δείγματος στον διαλύτη διευκολύνοντας τη διαδικασία εκχύλισης. 4) Η θερμοκρασία. Με αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνεται η διαλυτότητα και το ιζώδες με αποτέλεσμα να αυξάνεται η απόδοση της εκχύλισης. Περαιτέρω αύξηση όμως εξασθενεί το φαινόμενο της σπηλαίωσης και κατ' επέκταση την απόδοση της εκχύλισης. Μελέτη εκχύλισης φαινολικών από παραπροϊόντα καφέ έδειξε ότι μειώνεται η απόδοση της εκχύλισης πάνω από τους 45°C 5) Ο χρόνος εκχύλισης. Η απόδοση της εκχύλισης αυξάνεται με αύξηση του χρόνου ενώ από ένα σημείο και έπειτα, μειώνεται. Με την αρχική αύξηση του χρόνου ενισχύεται η διόγκωση, η ενυδάτωση, ο κατακερματισμός και ο σχηματισμός πόρων στη μήτρα του φυτικού ιστού και βοηθάει την εκχύλιση. Ωστόσο, η έκθεση σε υπερήχους για πολύ μεγάλη διάρκεια προκαλεί δομικές βλάβες στη διαλυμένη ουσία και μειώνει την απόδοση εκχύλισης (Kumaretal., 2021).

Για την εκχύλιση φαινολικών και αντιοξειδωτικών ουσιών από φυτικούς ιστούς ο συνηθέστερος διαλύτης που επιλέγεται είναι η αιθανόλη σε ποσοστό 50-80% (Şahin and Şamli, 2013; Lanjekar et al., 2022; Psarrou et al., 2017). Άλλοι διαλύτες που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι το νερό (Qin et al., 2021), η μεθανόλη σε ποσοστό 50-100% (Taskin and Özbek, 2020; Nile et al., 2017) και η ακετόνη (Yang et al., 2021). Η ένταση των υπερήχων που επιλέγουν οι περισσότεροι ερευνητές κυμαίνεται από 100 έως 225W και η διάρκεια της εκχύλισης είναι στη πλειοψηφία των μελετών λιγότερη από 60 λεπτά. Όσον αφορά την θερμοκρασία εκχύλισης, κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα από θερμοκρασία περιβάλλοντος (20°C) έως τους 40°C. Ωστόσο υπάρχουν και μελέτες που έχουν κάνει χρήση υψηλότερων θερμοκρασιών, έως και 80°C. Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται μερικές εφαρμογές της μεθόδου για εκχύλιση φαινολικών.

Πίνακας 3.2: Μελέτες εκχύλισης φαινολικών με την τεχνική των υπερήχων.

Πρώτη ύλη	Ανακτώμενο συστατικό	Διαλύτης	Ένταση υπερήχων	Θερμοκρασία	Χρόνος	Αναλογία δείγματος/ διαλύτη	Βιβλιογραφία
Φλούδες μάγκο	Αντιοξειδωτικές ουσίες	80% αιθανόλη	20-100W	30±2°C	30 min	1/30 g/mL	Lanjekar et al., 2022
Allium senescens L.	Φαινολικές ουσίες	100% νερό	150-600W	20°C	5-60 min	1/10 έως 1/50 g/mL	Qinet al., 2021
Πράσινο τσάι	Πολυφαινόλες	50% μεθανόλη	-	55°C	15 min	-	Taskin and Özbek, 2020
Ρίγανη	Πολυφαινόλες	100% μεθανόλη	-	60°C	20 min	1/100 g/mL	Nile et al., 2017
Δενδρολίβανο	Πολυφαινόλες	60% αιθανόλη	-	22°C	70 min	-	Psarrou et al., 2017
Αρώνια	Πολυφαινόλες	50% αιθανόλη	100 W	20-80°C	4h	1/10 έως 1/40 g/mL	d'Alessandro et al., 2012
Φλούδα πορτοκαλιού	Πολυφαινόλες	80% αιθανόλη	150 W	40°C	30 min	0.25 g/mL	Khanet al., 2010
Μεσοκάρπιο καρύδας	Πολυφαινόλες	60% ακετόνη	225 W	80°C	80 min	1/5 g/mL	Yanget al., 2021
Φύλλα ελιάς	Πολυφαινόλες	50% αιθανόλη	225 W	25°C	60 min	1/5 g/mL	Şahin and Şamlı, 2013

Σκοπός

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών, και πιο συγκεκριμένα φαινολικών συστατικών, από στερεά παραπροϊόντα ρίγανης, λεβάντας και ροδοπέταλων με την τεχνική της εκχύλισης με υπερήχους (ultrasound-assisted extraction, UAE). Για το σκοπό αυτό έγινε πειραματικός σχεδιασμός, μεταβάλλοντας τους κυριότερους παράγοντες που επηρεάζουν την εκχύλιση. Οι παράγοντες αυτοί είναι η συγκέντρωση της αιθανόλης (20-100% v/v), η αναλογία διαλύτη/δείγματος (20-60 /mLg), η ισχύς των υπερήχων (20-80%) και ο χρόνος (10-40 λεπτά). Το μοντέλο πειραματικού σχεδιασμού που εφαρμόστηκε είναι το μοντέλο Box – Behnken. Τέλος, βασικός στόχος της παρούσας μελέτη αποτελεί (α) η βελτιστοποίηση της εκχύλισης με υπερήχους, με στόχο την παραλαβή της μέγιστης ποσότητας φαινολικών ουσιών από το κάθε υπόστρωμα (ρίγανη-λεβάντα-ροδοπέταλα), (β) η μελέτη της επίδρασης των παραμέτρων της εκχύλισης το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο και (γ) η σύγκριση των τριών διαφορετικών τύπων παραπροϊόντων, με σκοπό την αξιοποίησή τους και την εφαρμογή τους ως συντηρητικούς παράγοντες σε διάφορα τρόφιμα, όπως τα κρεατοσκευάσματα.

Κεφάλαιο 3: Πειραματικό μέρος

3.1. Υλικά Και Μέθοδοι

3.1.1 Παραλαβή δειγμάτων

Για την παρούσα πτυχιακή χρησιμοποιήθηκαν ξηρά παραπροϊόντα ρίγανης, λεβάντας και ροδοπέταλων από την εταιρία Συνεταιρισμός Αρωματικών, Φαρμακευτικών και Οπωροκηπευτικών Φυτών Βοίου Κοζάνης (<https://kozaniroses.gr/>), και παραπροϊόντα ροδοπέταλων από την εταιρία Αναστασία Μαδίκας που εδρεύει στην Κοζάνη. Όλα τα παραπροϊόντα προέκυψαν μετά από απόσταξη των αρωματικών φυτών για την παραλαβή αιθέριων ελαίων, την χρονική περίοδο από 5/22 έως 9/22. Τα παραπροϊόντα ροδοπέταλων της εταιρίας Βοίου Κοζάνης προέκυψαν μετά από υδροαπόσταξη, ενώ της εταιρίας Αναστασία Μαδίκας μετά από υδρο-ατμοαπόσταξη. Τα παραπροϊόντα ρίγανης και λεβάντας προέκυψαν μετά από ατμοαπόσταξη, επίσης για την παραλαβή αιθέριων ελαίων. Τα παραπροϊόντα ροδοπέταλων και από τις δύο εταιρίες δεν ήταν ξηρά, για το λόγο αυτό ξηράθηκαν μέσω λυοφιλίωσης αμέσως μετά την παραλαβή τους. Στη συνέχεια, όλα τα παραπροϊόντα αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη (-18°C), μέχρι να χρησιμοποιηθούν για τις αναλύσεις. Τα παραπροϊόντα μελετήθηκαν ως προς την περιεκτικότητά τους σε φαινολικά συστατικά. Επιπλέον, παραλήφθηκε ξηρή δρόγη από την εταιρία KOZANIROSES, Δήμος Βοίου Κοζάνης και από τα τρία αρωματικά φυτά η οποία χρησιμοποιήθηκε για τη βελτιστοποίηση της εκχύλισης με υπερήχους με μετρούμενο μέγεθος το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο.

3.1.2 Αντιδραστήρια, Υλικά & Όργανα

Για την πραγματοποίηση του εργαστηριακού μέρους, χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω:

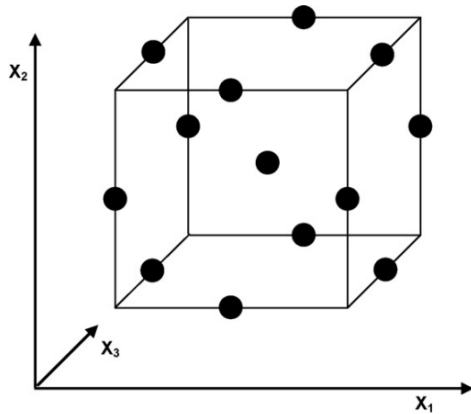
- Θερμοστοιχείο
- Συσκευή υπερήχων
- Αναλυτικός ζυγός
- Συσκευή φυγοκέντρωσης
- Απιονισμένο νερό
- Γυάλινες πιπέτες Pasteur

- Πιπέτες
- Ρύγχη πιπετών (tips)
- Σωλήνες τύπου falcon
- Αναδευτήρας τύπου vortex
- Φασματοφωτόμετρο
- Πλαστικές κυψελίδες
- Αντιδραστήριο Folin
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου Na_2CO_3

3.2. Πειραματικός σχεδιασμός

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ο πειραματικός σχεδιασμός Box – Behnken με στόχο την βελτιστοποίηση της εκχύλισης για κάθε ένα υπόστρωμα και την παραλαβή της μέγιστης ποσότητας φαινολικών ουσιών. Ο σχεδιασμός Box-Behnken ανήκει στη μεθοδολογία επιφανειών απόκρισης (RSM), και είναι ίσως ο πιο διαδεδομένος καθώς απαιτεί τις λιγότερες πειραματικές δοκιμές. Άλλα πλεονεκτήματα του συγκριτικά με άλλους σχεδιασμούς όπως οι central composite, Doehlert matrix κ.α. είναι ότι είναι πιο αποτελεσματικός, δεν περιλαμβάνει πειράματα στις ακραίες συνθήκες (εξοικονόμηση πόρων και ενέργειας), απαιτεί πειράματα μόνο σε τρία επίπεδα (*Ahmed and Mir, 2022; Ferreira et al., 2007*).

Στο σχεδιασμό Box–Behnken, τα πειραματικά σημεία βρίσκονται σε σφαιρικό σχεδιασμό (οι τιμές ισαπέχουν από το κεντρικό σημείο), όπως φαίνεται στην Εικόνα 3.1 για ένα σχεδιασμό τριών παραγόντων. Στο κεντρικό σημείο συνήθως γίνονται 3 πειραματικές επαναλήψεις. Ως «κεντρικό σημείο» ορίζεται αυτό που έχει τη συντεταγμένη 0 για κάθε μεταβλητή (*Κωνσταντέλη, 2019*).



Εικόνα 3.1: Σχεδιασμός Box-Behnken με 3 μεταβλητές, σε τρία επίπεδα (Ferreira et al. 2007).

Στην παρούσα εργασία έγινε χρήση του πειραματικού σχεδιασμού Box Behnken με 4 παράγοντες σε 3 επίπεδα, για την βελτιστοποίηση της εκχύλισης προς το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο. Οι παράγοντες που εξετάστηκαν είναι η συγκέντρωση αιθανόλης (X_1), ο χρόνος εκχύλισης (X_2), η αναλογία διαλύτη /φυτικού υλικού (X_3) και η ισχύς των υπερήχων (X_4). Επιλέχθηκαν αυτοί οι 4 παράγοντες καθώς, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, είναι οι πιο σημαντικοί για την αύξηση του ολικού φαινολικού περιεχομένου των εκχυλισμάτων (Βελόπουλος, 2022).

Στον Πίνακα 3.1. αναγράφονται τα απαιτούμενα πειράματα για την εύρεση των βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης με υπερήχους των μελετούμενων αρωματικών φυτών.

Πίνακας 3.4: Απεικόνιση των τιμών των παραμέτρων της διεργασίας με βάση τον πειραματικό σχεδιασμό Box Behnken.

Κωδικός εκχύλισης	Συγκέντρωση Αιθανόλης (%)	Χρόνος εκχύλισης (λεπτά)	Αναλογία διαλύτη/δείγματος (mL/g)	Ισχύς υπερήχων (%)
1	60	25	60	20
2	20	25	60	50
3	100	25	40	20
4	100	25	20	50
5	60	10	40	20
6	100	40	40	50
7	60	25	60	80
8	20	10	40	50
9	100	25	40	80

10	60	40	20	50
11	60	25	20	80
12	60	40	40	80
13	100	10	40	50
14	60	25	40	50
15	60	10	20	50
16	60	10	60	50
17	20	25	40	80
18	20	40	40	50
19	60	25	20	20
20	60	25	40	50
21	20	25	40	20
22	100	25	60	50
23	60	10	40	80
24	60	40	60	50
25	60	40	40	20
26	60	25	40	50
27	20	25	20	50

3.3. Πειραματική πορεία

Οι παραπάνω 27 εκχυλίσεις πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας την ξηρή δρόγη της ρίγανης, της λεβάντας και των ροδοπέταλων λόγω της μεγαλύτερης διαθέσιμης ποσότητας των δρογών έναντι των αντίστοιχων παραπροϊόντων. Για το σκοπό αυτό ζυγίστηκαν $0,500 \pm 0,05$ γραμμάρια από το κάθε δείγμα και αναμείχθηκε με τις κατάλληλες ποσότητες απιονισμένου νερού και αιθανόλης. Οι εκχυλίσεις έγιναν στο σύστημα υπερήχων από την εταιρία BandelinSonoplus (Berlin, Germany) (Εικόνα 3.2.a) και καθόλη τη διάρκεια της εκχύλισης γινόταν καταγραφή της θερμοκρασίας με χρήση θερμοστοιχείων (Εικόνα 3.2.b). Για να διατηρηθεί η θερμοκρασία σε χαμηλά επίπεδα και να μη καταστραφούν τα θερμοευαίσθητα συστατικά των δειγμάτων, έγινε χρήση παγόλουτρου όπως φαίνεται στην εικόνα 3.3.a. Το εύρος θερμοκρασιών στο τέλος των εκχυλίσεων κυμάνθηκε από 10 έως 38 °C.



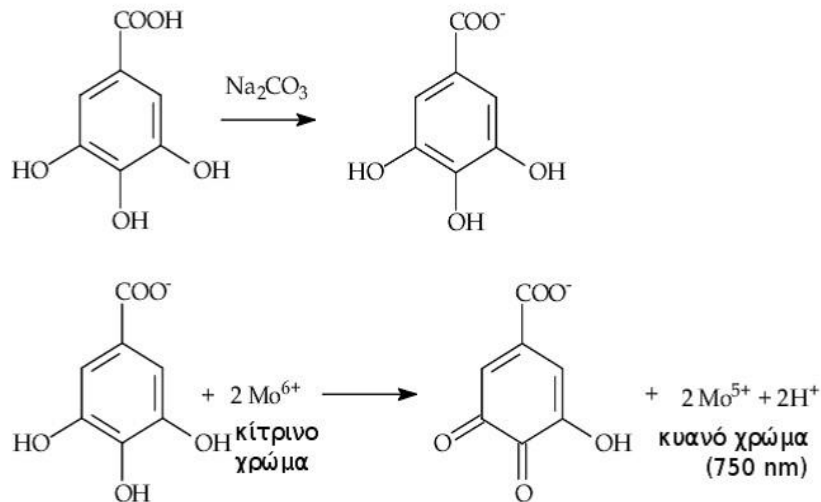
Εικόνα 3.3: (α) Σύστημα υπερήχων, (β) Θερμοστοιχεία.

Έπειτα από κάθε εκχύλιση, τα δείγματα υποβλήθηκαν σε φυγοκέντρηση στα 3500 rpm για 15 λεπτά. Στη συνέχεια έγινε λήψη του υπερκείμενου δείγματος και ακολούθησε προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου με την μέθοδο Folin–Ciocalteu. Από τις μετρήσεις αυτές, έγινε εύρεση των βέλτιστων συνθηκών εκχύλισης και των συνθηκών εκχύλισης που έδωσαν την ελάχιστη, τη μέση και τη μέγιστη εκχύλιση φαινολικών συστατικών. Οι εκχυλίσεις σε αυτές τις 4 συνθήκες επαναλήφθηκαν και στα ξηρά παραπροϊόντα του κάθε αρωματικού φυτού και έγινε υπολογισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου με τη μέθοδο Folin–Ciocalteu.

3.4. Προσδιορισμός του ολικού φαινολικού περιεχομένου (total phenolic content, tpc) με τη μεθοδο folin–ciocalteu

Αρχή μεθόδου

Το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu αποτελείται από άλατα του μολυβδαινίου (Mo) και του βολφραμίου (W). Σε αλκαλικό περιβάλλον, η φαινολική ένωση οξειδώνεται και το αντιδραστήριο ανάγεται προς οξείδια που έχουν το χαρακτηριστικό κυανό χρώμα του πεντασθενούς μολυβδαινίου. Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη του φαινολικού περιεχομένου, η συγκέντρωση του οποίου εκφράζεται σε ισοδύναμα ενός επιλεγμένου προτύπου.



Εικόνα 3.3. Αντίδραση του γαλλικού οξέος με το αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu μέσω μηχανισμού μεταφοράς ενός ηλεκτρονίου.

Αντιδραστήρια

- Αντιδραστήριο (F-C phenol reagent), Merck KGaA, Germany
- Κορεσμένο διάλυμα ανθρακικού νατρίου Na_2CO_3 . Για την παρασκευή του Na_2CO_3 , σε 800,0 mL απεσταγμένου H_2O διαλύονται 200,00 g άνυδρου ανθρακικού νατρίου (Na_2CO_3) με τη βοήθεια του βρασμού. Αφού επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προστίθενται ~80 g κρυστάλλων Na_2CO_3 , και το διάλυμα αφήνεται για 24 h. Τέλος, διηθείται και αραιώνεται μέχρι το 1,00 L με απεσταγμένο H_2O . Το διάλυμα παραμένει σταθερό και κατάλληλο για χρήση για μεγάλο χρονικό διάστημα
- Γαλλικόξύ (Gallic Acid, GA). Παρασκευάστηκε stock διαλύματος γαλλικού οξέος, συγκέντρωσης 5 g GA/L ως εξής: 0,500 g GA διαλύθηκαν πλήρως σε 10,0 mL αιθανόλης και αραιώθηκαν με απιονισμένο H_2O μέχρι τα 100,00 mL. Το διάλυμα διατηρείται στο ψυγείο για 2 εβδομάδες. Από το stock διάλυμα παρασκευάζονται υδατικά διαλύματα συγκεντρώσεων 25-2600 mgGA/L προκειμένου να κατασκευασθεί η πρότυπη καμπύλη αναφοράς.
- Μεθανόλη αναλυτικής καθαρότητας
- Απεσταγμένο H_2O

Πειραματική πορεία

Σε πλαστικές κυψελίδες των 4,0 mL, τοποθετείται με μικροπιπέτα των 10-100μL οι προκαθορισμένες ποσότητες προτύπου ή αραιωμένου (1/4) δείγματος, 2500,0 μL απεσταγμένο H₂O και 200,0 μL αντιδραστηρίου F-C (βιομηχανικά παρασκευασμένο). Ακολουθεί ισχυρή ανάδευση στον κυκλοαναδευτήρα vortex και μετά από αναμονή 8 min σε σκοτεινό μέρος, προστίθενται 500,0 μL κορεσμένου διαλύματος Na₂CO₃ και το μείγμα αναδεύεται ξανά. Έπειτα, οι κυψελίδες τοποθετούνται για 30 min σε υδατόλουτρο σταθερής θερμοκρασίας 40°C, σε συνθήκες σκότους. Αφού αναπτυχθεί το επιθυμητό μπλε χρώμα και το περιεχόμενο των κυψελίδων αποκτήσει τη θερμοκρασία περιβάλλοντος μετρίεται η απορρόφηση στα 750 nm (A₇₅₀ nm) για κάθε δείγμα ή πρότυπο. Η διόρθωση στο σφάλμα της τιμής της απορρόφησης εξαιτίας του διαλύτη των δειγμάτων και των προτύπων γίνεται με “τυφλό” δείγμα. Η πειραματική διαδικασία και οι προσδιορισμοί έγιναν εις τριπλούν για κάθε δείγμα.

Έκφραση αποτελεσμάτων

Η περιεκτικότητα σε ολικές φαινολικές ουσίες κάθε δείγματος ή προτύπου υπολογίζεται από την παρακάτω πρότυπη καμπύλη αναφοράς και εκφράζεται σε ισοδύναμα γαλλικού οξέος (GAE, GallicAcidEquivalents) ανά L ή g δείγματος.

4. Αποτελέσματα

4.1. Λεβάντα

Στον παρακάτω πίνακα αναγράφεται το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των 27 εκχυλισμάτων λεβάντας όπως αυτά προέκυψαν μετά την εκχύλιση ξηρής δρόγης με υπερήχους σε διαφορετικές συνθήκες (αναγράφονται στον Πίνακα 3.1) και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο μετά από εκχύλιση στις βέλτιστες συνθήκες (Best Values), όπως αυτές προέκυψαν μετά την βελτιστοποίηση.

Πίνακας 4.1: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων λεβάντας.

Κωδικός εκχύλισης	Μέση περιεκτικότητα σε φαινολικά (mg GAE/g dry herb)
1	4,96±1,39
2	12,05±0,62
3	0,75±0,06
4	0,54±0,13
5	2,82±0,19
6	0,41±0,03
7	8,95±0,05
8	7,70±0,33
9	1,70±0,25
10	7,36±0,12
11	11,07±0,60
12	10,48±0,94
13	0,70±0,05
14	7,42±0,52
15	5,82±0,36
16	3,69±1,99
17	17,61±0,13
18	10,46±0,26
19	8,20±0,82
20	9,85±0,89
21	12,55±0,65
22	0,97±0,16
23	9,62±0,73
24	9,54±1,01
25	9,33±1,04
26	9,20±0,65
27	11,12±0,74
Βέλτιστες συνθήκες (Best Values)	22,33±0,83

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 4.1, και σε συνδυασμό με τον πίνακα 3.1, παρατηρείται ότι το ολικό φαινολικό περιεχόμενο διαφέρει αρκετά μεταξύ των διαφορετικών εκχυλισμάτων. Η συγκέντρωση των φαινολικών κυμαίνεται από 0,41 έως 17,61 mg GAE/g ξηρής δρόγης λεβάντας. Οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται στα δείγματα 3, 4, 6, 9, 13 και 22. Κοινό χαρακτηριστικό αυτών των 6 εκχυλίσεων είναι το ποσοστό της αιθανόλης, το οποίο ήταν 100%. Αντίθετα, οι υψηλότερες τιμές φαινολικών παρατηρούνται στα δείγματα 2, 11, 12, 17, 21 και 27. Οι περισσότερες από αυτές (εξαιρούνται οι 11 και 12) έχουν γίνει με ποσοστό αιθανόλης 20% για χρονικό διάστημα 25 λεπτών. Ενώ το ποσοστό αιθανόλης στις 11 και 12 είναι 60%. Τα αποτελέσματα δεν μπορούν να ομαδοποιηθούν με κάποιο τρόπο ως προς την αναλογία διαλύτη/δείγμα και την ισχύς των υπερήχων. Τέλος, τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών έχει το δείγμα 17 με $17,61 \pm 0,13$ mgGAE/g και συνθήκες εκχύλισης: 20% αιθανόλη, 25 λεπτά χρόνος εκχύλισης, 40/1 αναλογία διαλύτη/δείγμα και 80% ένταση υπερήχων.

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
1.67115	89.37%	86.18%	78.90%

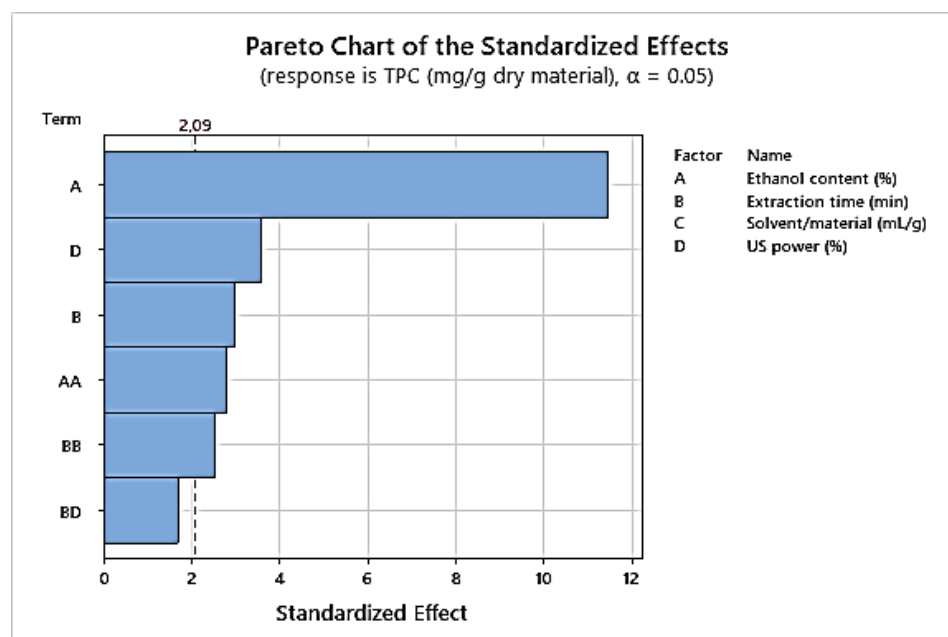
Εικόνα 4.1: Model summary για πειραματικό σχεδιασμό λεβάντας

Από την ανάλυση των δεδομένων προέκυψε ότι το R^2 και το R^2_{adj} είναι κοντά στο 0,9 και μεταξύ τους διαφέρουν λιγότερο από 0,2 (0,0319), οπότε το μοντέλο είναι αξιόπιστο (Εικόνα 4.1). Επιπροσθέτως, το R^2_{pred} , που αποτελεί τον συντελεστή ικανότητας πρόβλεψης του μοντέλου ως προς το φαινολικό περιεχόμενο, είναι κοντά στο 0,8, δίνοντας ικανοποιητικό αποτέλεσμα.

Πίνακας 4.2: Ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA), για τα δείγματα λεβάντας

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	6	469.549	78.258	28.02	0.000
Linear	3	428.488	142.829	51.14	0.000
Ethanol content (%)	1	367.577	367.577	131.62	0.000
Extraction time (min)	1	24.750	24.750	8.86	0.007
US power (%)	1	36.161	36.161	12.95	0.002
Square	2	33.066	16.533	5.92	0.010
Ethanol content (%)*Ethanol content (%)	1	21.742	21.742	7.79	0.011
Extraction time (min)*Extraction time (min)	1	17.891	17.891	6.41	0.020
2-Way Interaction	1	7.994	7.994	2.86	0.106
Extraction time (min)*US power (%)	1	7.994	7.994	2.86	0.106
Error	20	55.855	2.793		
Lack-of-Fit	18	52.691	2.927	1.85	0.408
Pure Error	2	3.164	1.582		
Total	26	525.404			



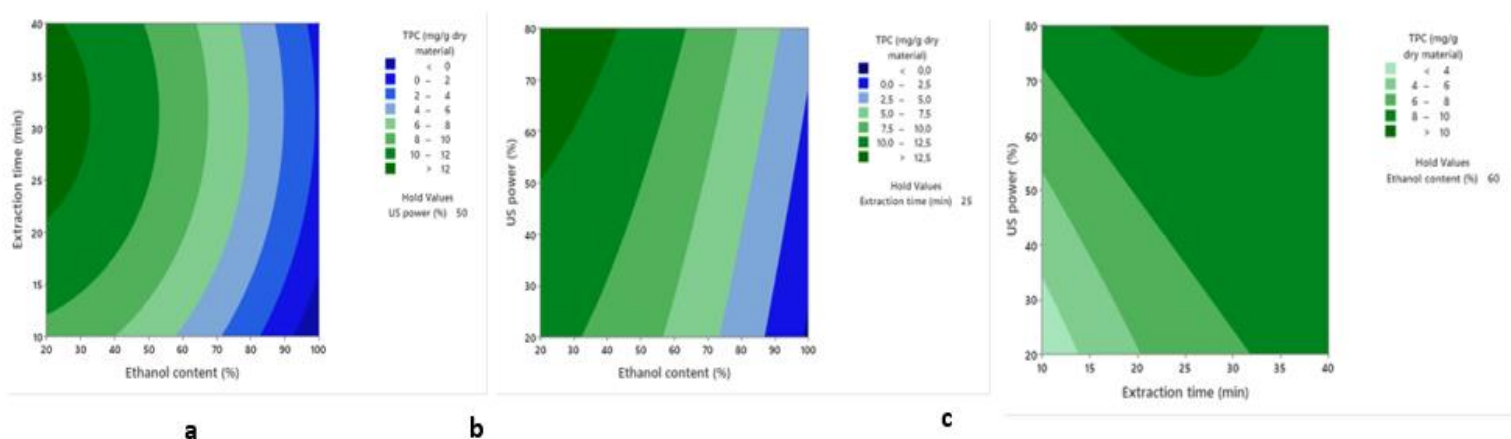
Γράφημα 4.1: Ραβδόγραμμα Pareto των τροποποιημένων αποτελεσμάτων λεβάντας

Οι σημαντικοί παράγοντες με βάση τον Πίνακα 4.2 οπτικοποιούνται στο διάγραμμα Pareto (Γράφημα 4.1). Έτσι γίνεται αντιληπτό πως η τιμή p εφαρμόστηκε για να προσδιοριστεί η σημαντικότητα του κάθε παράγοντα και η ισχύς αλληλεπίδρασης των συνδυασμένων παραγόντων. Οι αντίστοιχοι παράγοντες

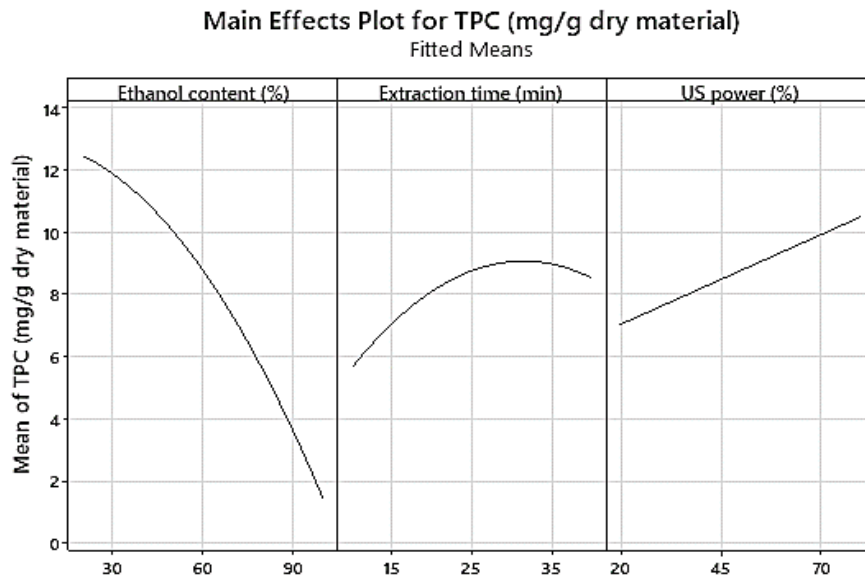
υποδεικνύουν υψηλή επίδραση όταν η τιμή p είναι μικρότερη ($p < 0,05$). Από τις τιμές p που υποδεικνύονται στο διάγραμμα Pareto μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η μεταβλητή που επηρεάζει περισσότερο την εκχύλιση φαινολικών ενώσεων από τη λεβάντας ήταν το X1: η συγκέντρωση αιθανόλης, που χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης (τιμή $p=0,000$). Ακολουθούν, οι μεταβλητές X4: ένταση υπερήχων (τιμή $p=0,002$) και X2: χρόνος εκχύλισης (τιμή $p=0,007$), οι οποίες επηρεάζουν και αυτές σε μικρότερο βαθμό το ολικό φαινολικό περιεχόμενο. Εν συνεχεία, φαίνονται οι παράγοντες στην εκθετική τους μορφή, με σημαντικότερους να είναι η συγκέντρωση αιθανόλης ($p=0,011$) και ο χρόνος εκχύλισης ($p=0,020$). Ενώ, δεν σημειώθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ παραγόντων, όπως ο χρόνος εκχύλισης με την ένταση των υπερήχων (τιμή $p=0,106$). Το lack-of-fit με τιμή $p = 0,408$, δηλώνει πως προσαρμόζονται καλά τα πειραματικά δεδομένα στο μοντέλο που προτάθηκε.

Επομένως, φαίνεται ότι ο παράγοντας που επηρεάζει σε μεγαλύτερο βαθμό την εκχύλιση φαινολικών από τη δρόγη λεβάντας είναι το ποσοστό της αιθανόλης, με το υψηλό ποσοστό (100%) να εκχυλίζει τα λιγότερα φαινολικά συστατικά.

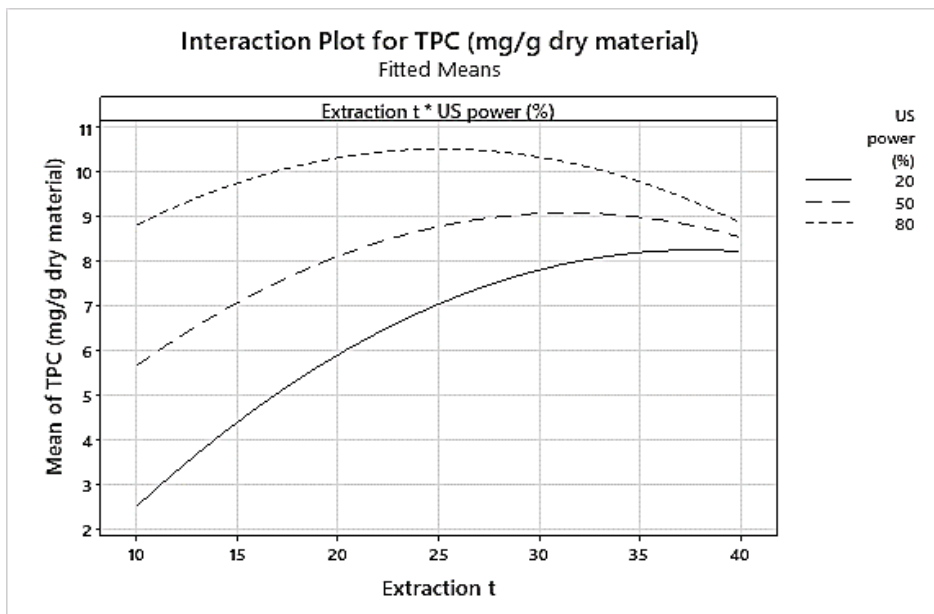
Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα του πειραματικού σχεδιασμού, με τις σημαντικές παραμέτρους της διαδικασίας όπως αυτές προέκυψαν από τον πίνακα ANOVA (Πίνακας 4.2) και τα p values.



Γράφημα 4.2: a) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και χρόνος εκχύλισης με σταθερή παράμετρο την ένταση των υπερήχων στο 50%, b) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και ένταση υπερήχων με σταθερή παράμετρο τον χρόνο εκχύλισης στα 25 min και c) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Χρόνος εκχύλισης και ένταση υπερήχων με σταθερή παράμετρο την συγκέντρωση της αιθανόλης στο 60%.



Γράφημα 4.3: *Main effects plot*. Στον άξονα y ' y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον άξονα x ' x δίνονται διαδοχικά η συγκέντρωση αιθανόλης, ο χρόνος εκχύλιση και η ένταση των υπερήχων.



Γράφημα 4.4: *Interaction plot*. Στον άξονα y ' y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον x ' x δίνεται ο χρόνος εκχύλισης.

Με βάση τα παραπάνω διαγράμματα, φαίνεται πως στις χαμηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης αυξάνεται σημαντικά το ολικό φαινολικό περιεχόμενο που εκχυλίζεται, ενώ όσο αυξάνεται η συγκέντρωση της αιθανόλης μειώνεται η απόδοση της εκχύλισης. Διατηρώντας σταθερή την ένταση των υπερήχων στο 50% (μέση τιμή

πειραματικού σχεδιασμού), μέγιστη εκχύλιση φαινολικών παρατηρείται σε χρόνους 25-35 λεπτά με συγκέντρωση αιθανόλης <40%.

Επιπλέον, διατηρώντας τον χρόνο εκχύλισης σταθερό στα 25 λεπτά, φαίνεται ότι μέγιστη εκχύλιση φαινολικών λαμβάνεται σε υψηλές εντάσεις υπερήχων (<50%) και χαμηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης (<30%). Τέλος, κρατώντας σταθερή την συγκέντρωση αιθανόλης στο 60% παρατηρείται αύξηση στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο που εκχυλίζεται τόσο με αύξηση του χρόνου εκχύλισης όσο και με αύξηση της έντασης των υπερήχων.

Η εξίσωση πρόβλεψης για τον υπολογισμό του ολικού φαινολικού περιεχομένου της λεβάντας είναι η παρακάτω:

Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg/g ξηρού δείγματος) = $-0,92 - 0,0001 \times \text{ποσοστό αιθανόλης}(\%) + 0,624 \times \text{χρόνος εκχύλισης (λεπτά)} + 0,1364 \times \text{ένταση υπερήχων}(\%) - 0,001152 \times \text{ποσοστό αιθανόλης}(\%)^2 - 0,00743 \times \text{χρόνος εκχύλισης (λεπτά)}^2 - 0,00314 \times \text{χρόνος εκχύλισης (λεπτά)} \times \text{ένταση υπερήχων}(\%)$.

Με βάση την παραπάνω εξίσωση οι βέλτιστες συνθήκες για τη λεβάντα είναι: συγκέντρωση αιθανόλης 20,5%, χρόνος εκχύλισης 25 λεπτά, αναλογία δείγματος/διαλύτη 1/40 και ισχύς υπερήχων 80%. Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών σε αυτές τις συνθήκες μετρήθηκε $22,33 \pm 0,83 \text{GAE/g}$.

4.2. Ρίγανη

Στον πίνακα που ακολουθεί αναγράφεται το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των 27 εκχυλισμάτων ρίγανης όπως αυτά προέκυψαν μετά την εκχύλιση δρόγης με υπερήχους σε διαφορετικές συνθήκες (αναγράφονται στον Πίνακα 3.1) και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο μετά από εκχύλιση στις βέλτιστες συνθήκες (Best Values), όπως αυτές προέκυψαν από την βελτιστοποίηση.

Πίνακας 4.3: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ρίγανης.

Run Order	Μέση περιεκτικότητα σε φαινολικά (mg GAE/g dry herb)
1	23,40±1,10
2	126,65±4,26
3	9,14±0,53
4	12,72±1,14

5	49,04±3,19
6	15,60±2,98
7	80,10±4,62
8	140,46±2,45
9	16,17±1,13
10	103,18±3,59
11	113,36±7,02
12	145,80±15,22
13	28,65±3,97
14	159,28±0,42
15	110,02±2,13
16	86,53±6,49
17	99,84±22,01
18	108,00±14,82
19	73,32±0,56
20	89,10±7,53
21	104,54±5,79
22	19,84±2,38
23	75,19±4,20
24	83,04±11,29
25	78,55±5,46
26	78,69±19,43
27	106,15±3,83
Βέλτιστες συνθήκες Best Values	146,57±28,50

Από τον παραπάνω πίνακα σε συνδυασμό με τα δεδομένα του πίνακα 3.1, φαίνεται ότι η συγκέντρωση των φαινολικών των δειγμάτων κυμαίνεται αρκετά, από 9,14 έως 159,28mg GAE/g ξηρής δρόγης ρίγανης. Τα δείγματα με τις χαμηλότερες τιμές φαινολικών είναι το 3, 4, 6, 9 και 22, οι οποίες δεν ξεπερνούν τα 20mgGAE/g ξηρής ρίγανης. Όπως και στην περίπτωση της λεβάντας, έτσι και στη ρίγανη τα δείγματα που εκχυλίστηκαν μόνο με αιθανόλη εμφανίζουν τη χαμηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ουσιών. Τα δείγματα που εμφανίζουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών είναι τα 2, 8, 12 και 14, με συγκεντρώσεις πάνω από 140mgGAE/g ξηρής ρίγανης. Τα δείγματα αυτά έχουν εκχυλιστεί με μικρότερα ποσοστά αιθανόλης (20 και 60%), σε διαφορετικούς χρόνους και ισχύς υπερήχων. Κοινό στοιχείο των δειγμάτων 8, 12 και 14 είναι η αναλογία διαλύτη/δείγμα, η οποία και στις 3 περιπτώσεις ήταν 40/1. Τα δείγματα δεν μπορούν να ομαδοποιηθούν ως προς την ισχύς των υπερήχων ή τους χρόνους εκχύλισης. Τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών έχει το δείγμα 14 με 159,28±0,42mgGAE/g, και συνθήκες εκχύλισης: 60%

αιθανόλη, 25 λεπτά χρόνος εκχύλισης, 40 αναλογία διαλύτη/δείγμα και 50% ένταση υπερήχων.

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
23,7810	75,04%	70,50%	63,27%

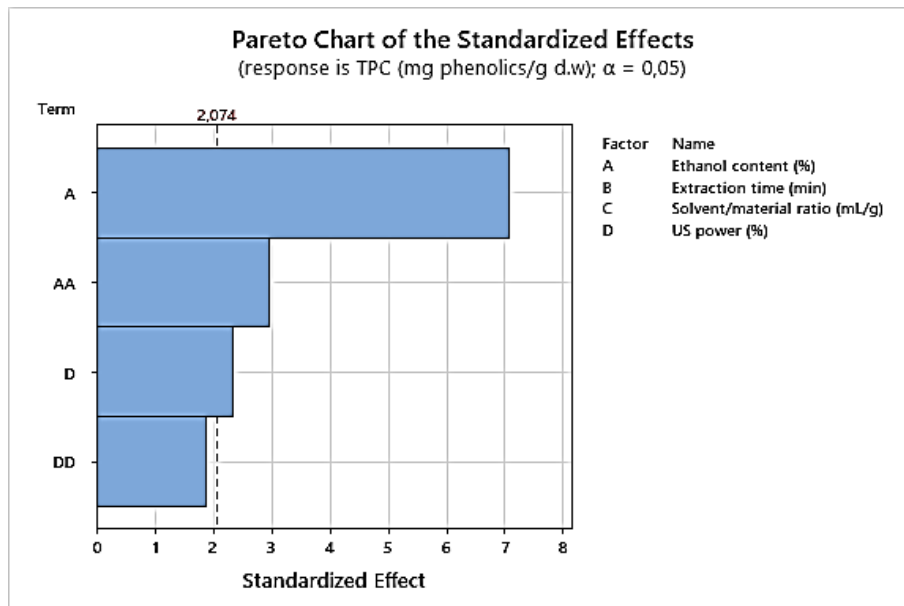
Εικόνα 4.2: Model summary για πειραματικό σχεδιασμό ρίγανης.

Ο συντελεστής προσαρμοστικότητας και αξιοπιστίας, R^2 , βρέθηκε 0,7504, τιμή που το καθιστά ικανοποιητικό, και διαφέρει από το R^2_{adj} , που είναι ίσο με 0,705, κατά $0,0454 < 0,2$, δίνοντας αξιόπιστο αποτέλεσμα (Εικόνα 4.2).

Πίνακας 4.4: Ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA), για τα δείγματα ρίγανης

Analysis of Variance

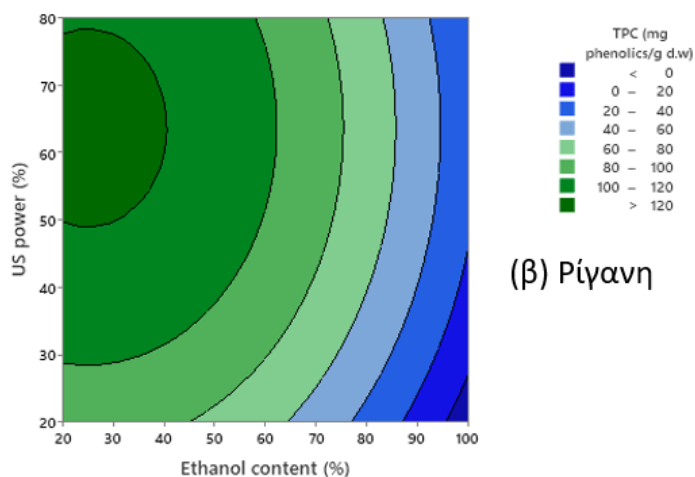
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	4	37395	9348,9	16,53	0,000
Linear	2	31463	15731,3	27,82	0,000
Ethanol content (%)	1	28376	28375,9	50,18	0,000
US power (%)	1	3087	3086,8	5,46	0,029
Square	2	5933	2966,4	5,25	0,014
Ethanol content (%)*Ethanol content (%)	1	4948	4947,6	8,75	0,007
US power (%)*US power (%)	1	2009	2009,0	3,55	0,073
Error	22	12442	565,5		
Lack-of-Fit	20	8599	429,9	0,22	0,975
Pure Error	2	3843	1921,5		
Total	26	49837			



Γράφημα 4.5: Ραβδόγραμμα Pareto των τροποποιημένων αποτελεσμάτων ρίγανης

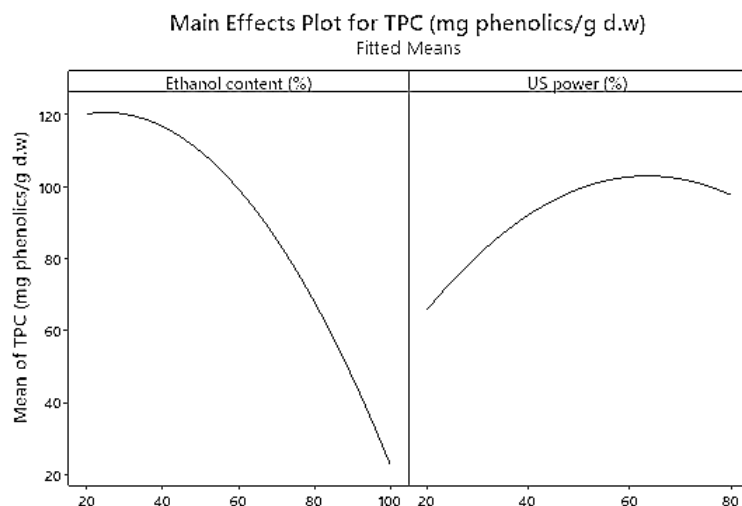
Η αναλογία της αιθανόλης αποτελεί τον σημαντικότερο συντελεστή (όπως και στην περίπτωση της λεβάντας) με τιμή $p = 0,000$. Ακολουθεί η ένταση των υπερήχων με τιμή $0,029$. Επιπλέον, στην εκθετική της μορφή η συγκέντρωση της αιθανόλης είναι στατιστικά σημαντική καθώς η τιμή p ανέρχεται σε $0,007$. Η έλλειψη προσαρμοστικότητας (lack-of-fit) με τιμή $p = 0,975$ θεωρείται εξαιρετική, καθώς δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά. Συνεπώς το μοντέλο προσαρμόστηκε καλά στα δεδομένα που δόθηκαν.

Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα του πειραματικού σχεδιασμού, με τις σημαντικές παραμέτρους της διαδικασίας όπως αυτές προέκυψαν από τον πίνακα ANOVA (Πίνακας 4.4) και τα p values.



(β) Ρίγανη

Γράφημα 4.6:α) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και ένταση των υπερήχων, με σταθερή παράμετρο την αναλογία διαλύτη/δείγματος και το χρόνο.



Γράφημα 4.7: Main effect plot. Στον άξονα y'y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον άξονα x'x δίνονται διαδοχικά η συγκέντρωση αιθανόλης και η ένταση των υπερήχων.

Σύμφωνα με τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται, όπως και στην περίπτωση της λεβάντας, ότι μέγιστο φαινολικό περιεχόμενο προκύπτει κατά την εκχύλιση με χαμηλό ποσοστά αιθανόλης (20-40%) και όσο αυξάνεται η συγκέντρωση αιθανόλης φαίνεται να μειώνονται τα ολικά φαινολικά που εκχυλίζονται. Επιπλέον, με αύξηση της έντασης των υπερήχων, αυξάνεται η ποσότητα των φαινολικών που εκχυλίζονται.

Παρακάτω δίνεται η πολυωνυμική εξίσωση πρόβλεψης για τη ρίγανη:

Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg/g ξηρού δείγματος) = $33,8 + 0,870 \times \text{ποσοστό αιθανόλης}(\%) + 2,50 \times \text{ένταση υπερήχων}(\%) - 0,01738 \times \text{ποσοστό αιθανόλης}(\%)^2 - 0,0197 \times \text{ένταση υπερήχων}(\%)^2$.

Με βάση την παραπάνω εξίσωση οι βέλτιστες συνθήκες για τη ρίγανη είναι: συγκέντρωση αιθανόλης 30%, χρόνος εκχύλισης 25 λεπτά, αναλογία δείγματος/διαλύτη 1/40 και ισχύς υπερήχων 62%. Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών σε αυτές τις συνθήκες μετρήθηκε $146,57 \pm 28,50 \text{GAE/g}$.

4.3. Ρόδα

Στον παρακάτω πίνακα αναγράφεται το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των 27 εκχυλισμάτων ροδοπέταλων όπως αυτά προέκυψαν μετά την εκχύλιση δρόγης με υπερήχους σε διαφορετικές συνθήκες (αναγράφονται στον Πίνακα 3.1) και το ολικό φαινολικό περιεχόμενο μετά από εκχύλιση στις βέλτιστες συνθήκες (Best Values), όπως αυτές προέκυψαν από την βελτιστοποίηση.

Πίνακας 4.5 : Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων ροδοπέταλων.

Run Order	Μέση περιεκτικότητα σε φαινολικά (mg GAE/g dry herb)
1	84,42±1,39
2	126,09±14,30
3	2,79±1,37
4	9,07±1,65
5	73,59±3,13
6	23,99±1,19
7	89,10±17,53
8	81,48±7,04
9	20,05±0,78
10	104,26±8,94
11	114,81±17,41
12	128,97±13,02
13	22,52±1,81
14	127,87±11,26
15	90,32±1,78
16	76,63±9,99
17	140,53±18,55
18	158,17±16,35
19	101,12±7,48
20	141,12±3,82

21	126,35±1,97
22	13,81±4,61
23	110,71±11,40
24	143,85±21,69
25	143,95±11,63
26	141,04±11,58
27	145,41±7,23
Βέλτιστες συνθήκες Best Values	85,31±5,58

Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών των δειγμάτων κυμαίνεται από 2,79 έως 158,17 mg GAE/g ξηρών ροδοπέταλων. Τα δείγματα ροδοπέταλων με τη χαμηλότερη συγκέντρωση ολικού φαινολικού περιεχομένου είναι τα 3, 4, 9 και 22, η οποία δεν ξεπερνά τα 20 mgGAE/g ξηρών ροδοπέταλων. Όπως και στα προηγούμενα αρωματικά φυτά, τα δείγματα με την χαμηλότερη συγκέντρωση φαινολικών έχουν εκχυλιστεί μόνο με αιθανόλη. Επιπλέον και τα 4 δείγματα ροδοπέταλων έχουν εκχυλιστεί για 25 λεπτά. Υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών παρατηρούνται στα δείγματα 18, 20, 24, 25, 26 και 27, με τιμές πάνω από 140 mgGAE/g ξηρών ροδοπέταλων. Τα δείγματα αυτά έχουν εκχυλιστεί σε διαφορετικές συγκεντρώσεις αιθανόλης (20 και 60%), σε διαφορετικούς χρόνους (25 και 40 λεπτά), διαφορετική αναλογία διαλύτη/δείγματος και διαφορετική ισχύς υπερήχων. Ωστόσο η πλειοψηφία αυτών (μοναδική εξαίρεση είναι το δείγμα 25) έχουν υποστεί εκχύλιση με ισχύς υπερήχων 50%. Τη μεγαλύτερη συγκέντρωση φαινολικών έχει το δείγμα 18 με 158,17±16,35 mg GAE/g, και συνθήκες εκχύλισης: 60% αιθανόλη, 40 λεπτά χρόνος εκχύλισης, 40/1 αναλογία διαλύτη/δείγμα και 50% ένταση υπερήχων.

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
12,0725	96,39%	93,75%	85,35%

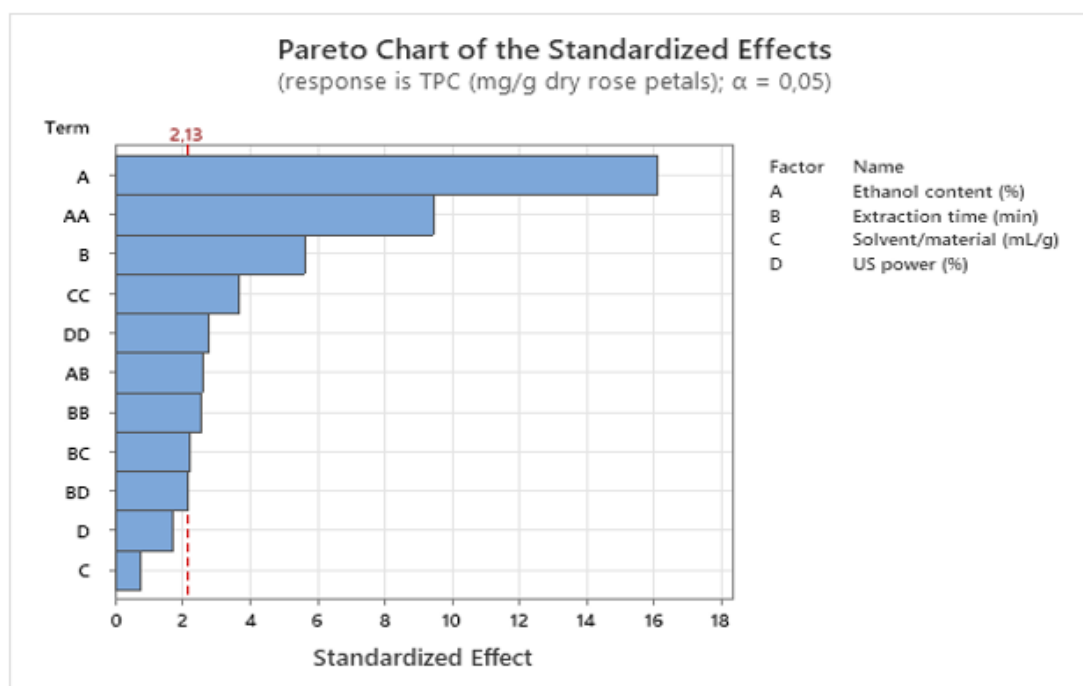
Εικόνα 4.3: Modelsummary για πειραματικό σχεδιασμό ροδοπέταλων.

Η ανάλυση των δεδομένων δείχνει πως το R^2 και το R^2_{adj} είναι εξαιρετικά με τιμή μεγαλύτερη του 0,9. Η διαφορά μεταξύ τους είναι εμφανώς λιγότερο από 0,2 (0,0264), επομένως και αυτό το μοντέλο είναι αξιόπιστο. Τέλος, το R^2_{pred} , είναι μεγαλύτερο του 0,8(Εικόνα 4.3).

Πίνακας 4.6: Ανάλυση της διακύμανσης (ANOVA), για τα δείγματα ροδοπέταλων

Analysis of Variance

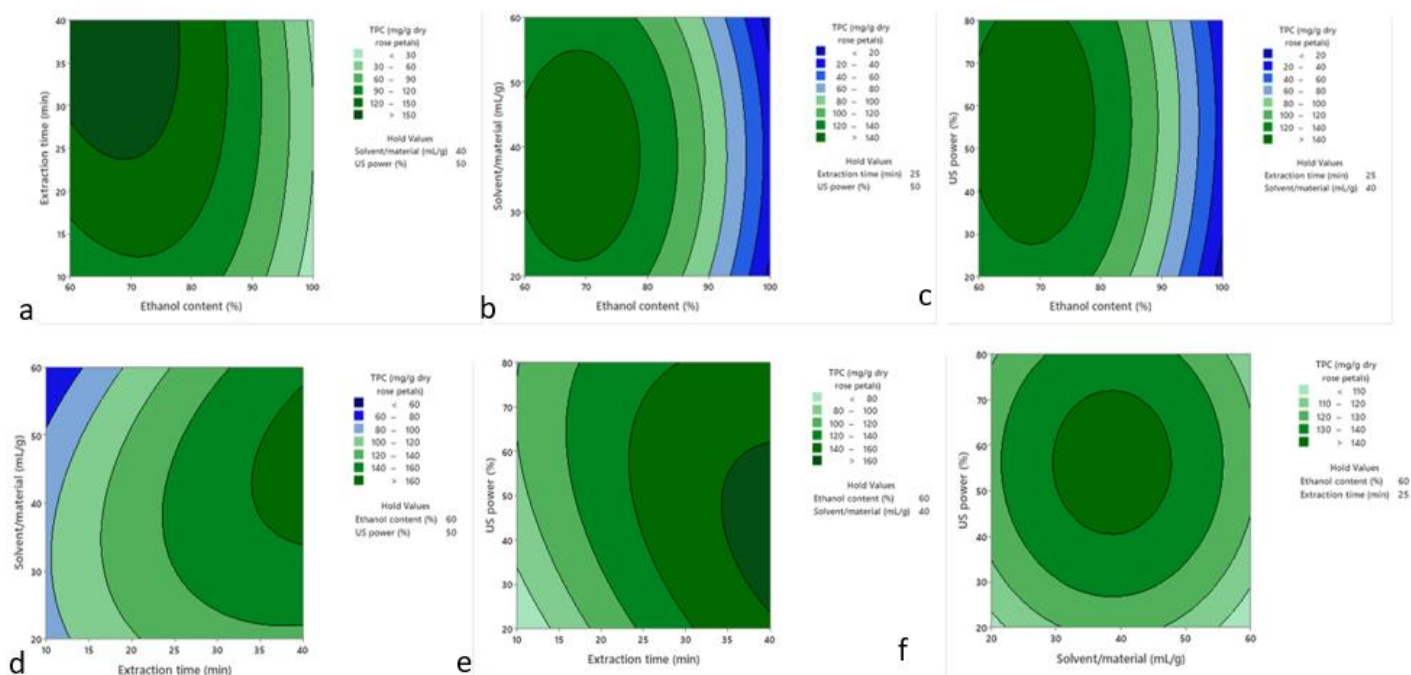
Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	11	58432,6	5312,1	36,45	0,000
Linear	4	42868,8	10717,2	73,53	0,000
Ethanol content (%)	1	37746,5	37746,5	258,99	0,000
Extraction time (min)	1	4610,0	4610,0	31,63	0,000
Solvent/material (mL/g)	1	80,9	80,9	0,56	0,468
US power (%)	1	431,3	431,3	2,96	0,106
Square	4	13201,0	3300,2	22,64	0,000
Ethanol content (%)*Ethanol content (%)	1	13041,4	13041,4	89,48	0,000
Extraction time (min)*Extraction time (min)	1	961,7	961,7	6,60	0,021
Solvent/material (mL/g)*Solvent/material (mL/g)	1	1982,1	1982,1	13,60	0,002
US power (%)*US power (%)	1	1135,5	1135,5	7,79	0,014
2-Way Interaction	3	2362,9	787,6	5,40	0,010
Ethanol content (%)*Extraction time (min)	1	974,4	974,4	6,69	0,021
Extraction time (min)*Solvent/material (mL/g)	1	709,8	709,8	4,87	0,043
Extraction time (min)*US power (%)	1	678,6	678,6	4,66	0,048
Error	15	2186,2	145,7		
Lack-of-Fit	13	2069,8	159,2	2,74	0,299
Pure Error	2	116,4	58,2		
Total	26	60618,8			



Γράφημα 4.8: Ραβδόγραμμα Pareto των τροποποιημένων αποτελεσμάτων ροδοπέταλων

Όπως φαίνεται από τον πίνακα ANOVA και το διάγραμμα Pareto, οι στατιστικά σημαντικές παράμετροι είναι η συγκέντρωση της αιθανόλης (όπως και στην περίπτωση της λεβάντας και της ρίγανης) και ο χρόνος εκχύλισης με τιμή $p = 0,000$. Ενώ, οι τιμές της αναλογίας διαλύτη/δείγματος και της έντασης των υπερήχων δεν αποτελούν σημαντικές παραμέτρους για τη παραλαβή του μέγιστου ολικού φαινολικού περιεχομένου. Στην εκθετική τους μορφή γίνεται αντιληπτό πως όλες παράμετροι (συγκέντρωση αιθανόλης, χρόνος εκχύλισης, αναλογία δείγματος διαλύτη και ένταση υπερήχων) είναι στατιστικά σημαντικές με τιμές $p < 0,05$. Η τιμή της lack-of-fit με τιμή $p = 0,299$, θεωρείται ικανοποιητική.

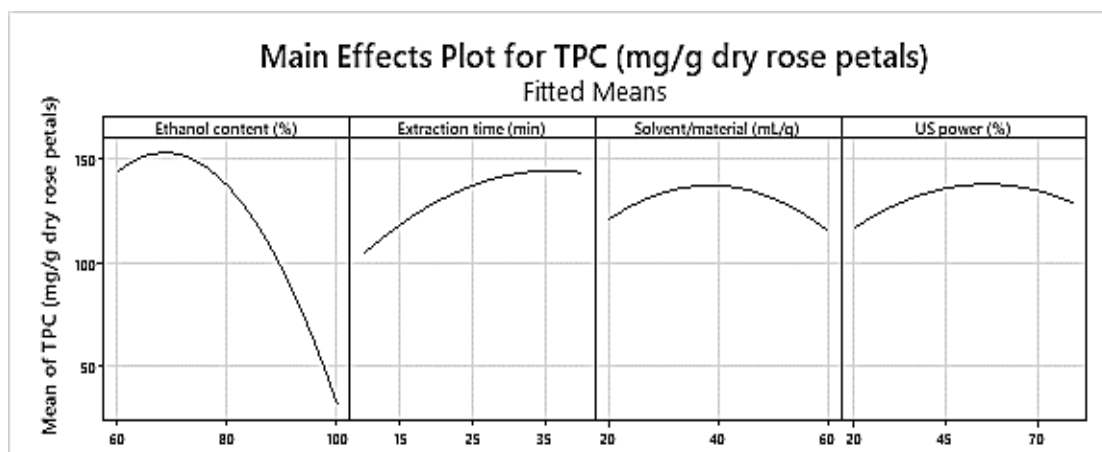
Παρακάτω παρουσιάζονται τα διαγράμματα του πειραματικού σχεδιασμού, με τις σημαντικές παραμέτρους της διαδικασίας όπως αυτές προέκυψαν από τον πίνακα ANOVA (Πίνακας 4.6) και τα p values.



Γράφημα 4.9: a) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και χρόνος εκχύλισης με σταθερές παραμέτρους την ένταση των υπερήχων στο 50% και την αναλογία διαλύτη/δείγματος στο 40ml/g, b) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και αναλογία διαλύτη/δείγματος με σταθερές παραμέτρους την ένταση των υπερήχων στο 50% και τον χρόνο εκχύλισης στα 25 λεπτά, c) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: Συγκέντρωση αιθανόλης και ένταση υπερήχων με σταθερές παραμέτρους στον χρόνο εκχύλισης στα 25 λεπτά και την αναλογία διαλύτη/δείγματος στο 40ml/g, d) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: τον χρόνο εκχύλισης και την αναλογία διαλύτη/δείγματος με σταθερές παραμέτρους την

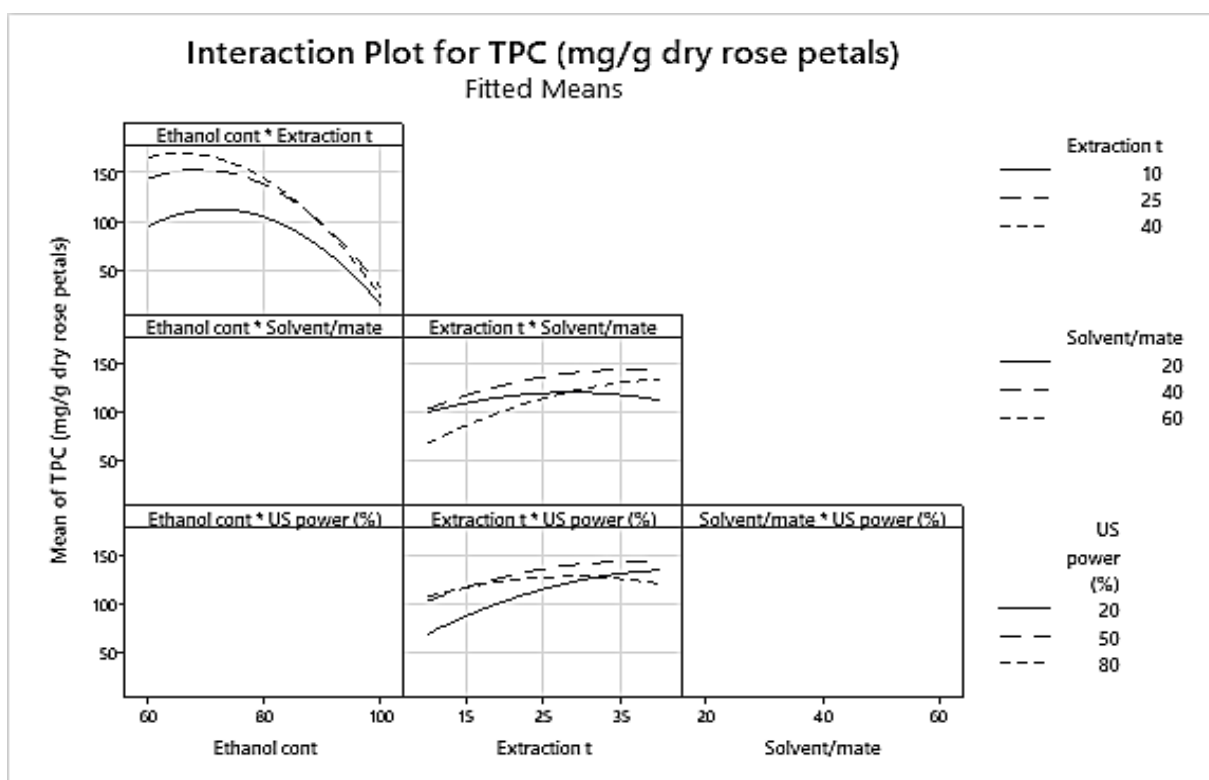
συγκέντρωση αιθανόλης στο 60% και ένταση υπερήχων στο 50%, ε) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: χρόνος εκχύλισης και ένταση υπερήχων με σταθερές παραμέτρους την συγκέντρωση αιθανόλης στο 60% και την αναλογία διαλύτη/δείγματος στο 40ml/g και f) Ολικό φαινολικό περιεχόμενο μεταβάλλοντας τις παραμέτρους: ένταση υπερήχων και την αναλογία διαλύτη/δείγματος με σταθερές παραμέτρους την συγκέντρωση αιθανόλης στο 60% και τον χρόνο εκχύλισης στα 25 λεπτά.

Με βάση τα δεδομένα του διαγράμματος 4.9 συμπεραίνεται ότι για εκχυλίσεις με αναλογία διαλύτη/δείγματος στα 40 ml/g και ένταση υπερήχων στο 50%, η μέγιστη απόδοση παρατηρείται σε υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης (60-75%) και διάρκεια εκχύλισης από 28 έως 40 λεπτά (Διάγραμμα 4.9.a). Για εκχύλιση με ένταση υπερήχων 50% για 25 λεπτά μέγιστη απόδοση παρατηρείται σε συγκέντρωση αιθανόλης 60-75% και αναλογία διαλύτη/ δείγματος από 30 έως 50 ml/g(Διάγραμμα 4.9.b). Για εκχύλιση με αναλογία διαλύτη/δείγματος 40 ml/g για 25 λεπτά, μέγιστη εκχύλιση φαινολικών παρατηρείται σε ποσοστό αιθανόλης 60-75% και ένταση υπερήχων 30-80% (Διάγραμμα 4.9.c). Για εκχύλιση με συγκέντρωση αιθανόλης 60% και ένταση υπερήχων 50%, μέγιστη απόδοση παρατηρείται για αναλογία διαλύτη/δείγμα 35-55 ml/g και διάρκεια εκχύλισης 35-40 λεπτά (Διάγραμμα 4.9.d). Για εκχύλιση με συγκέντρωση αιθανόλης 60% και αναλογία διαλύτη/δείγματος 40 ml/g, μέγιστη εκχύλιση φαινολικών παρατηρείται για εκχύλιση 35-40 λεπτά και ένταση υπερήχων 25-60% (Διάγραμμα 4.9.e). Τέλος, για εκχύλιση με συγκέντρωση αιθανόλης 60% και διάρκεια 25 λεπτά, μέγιστη απόδοση παρατηρείται σε ένταση υπερήχων 40-70% και αναλογία διαλύτη/δείγμα 32-48 ml/g(Διάγραμμα 4.9.f).



Γράφημα 4.10: στον άξονα y'y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον άξονα x'x δίνονται διαδοχικά η συγκέντρωση αιθανόλης, ο χρόνος εκχύλισης, η αναλογία ξηρής δρόγης / διάλυμα και η ένταση των υπερήχων.

Από το διάγραμμα 4.10 προκύπτει ότι μέγιστη εκχύλιση φαινολικών λαμβάνεται για υψηλές συγκεντρώσεις αιθανόλης (μεταξύ 65-75%), ενώ με περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης αιθανόλης η συγκέντρωση των φαινολικών που εκχυλίζεται, μειώνεται. Παρατηρείται επίσης ότι όσο αυξάνεται ο χρόνος της εκχύλισης τόσο μεγαλύτερη είναι και η ποσότητα των φαινολικών που λαμβάνονται κατά την εκχύλιση. Όταν η αναλογία διαλύτη/ δείγμα λαμβάνει τιμές μεταξύ 35-40 ml/g τότε εκχυλίζονται και οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινολικών ενώσεων στο εκχύλισμα. Τέλος, η εκχύλιση είναι πιο αποδοτική για ένταση εκχύλισης μεταξύ 45-70%.



Γράφημα 4.11: Interactionplot. Στον άξονα y'y δίνεται η συγκέντρωση των φαινολικών ενώ στον x'x δίνονται οι ανεξάρτητες μεταβλητές που μελετήθηκαν στον πειραματικό σχεδιασμό.

Από το πρώτο συνδυασμό του χρόνου εκχύλισης και της συγκέντρωσης της αιθανόλης φαίνεται πως καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνονται για συγκέντρωση

αιθανόλης μεταξύ 65-75% (όπως φάνηκε και στο διάγραμμα...) και διάρκεια εκχύλισης 40 λεπτά. Όπως παρουσιάζεται από το υπόμνημα του διαγράμματος αλλά και από τις σχηματιζόμενες καμπύλες, υψηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών προκύπτουν όσο αυξάνεται ο χρόνος εκχύλισης διατηρώντας σταθερή την συγκέντρωση της αιθανόλης στα προαναφερθέντα ποσοστά. Ο δεύτερος συνδυασμός που παρουσιάζεται είναι αυτός του χρόνου εκχύλισης σε σχέση με την αναλογία διαλύτη/δείγμα. Από αυτόν παρατηρείται ότι η ιδανική αναλογία για την εκχύλιση με βάση το υπόμνημα του διαγράμματος είναι 40 ml/g , ενώ μεγαλύτερες συγκεντρώσεις φαινολικών προκύπτουν για χρόνο εκχύλισης μεταξύ 25-35 λεπτών. Ο τρίτος και τελευταίος συνδυασμός παρουσιάζει τον χρόνο εκχύλισης σε σχέση με την ένταση των υπερήχων. Από αυτόν προκύπτει ότι μέγιστη απόδοση εκχύλισης φαινολικών παρατηρείται για διάρκεια εκχύλισης μεταξύ 25-35 λεπτών και ένταση υπερήχων 50%.

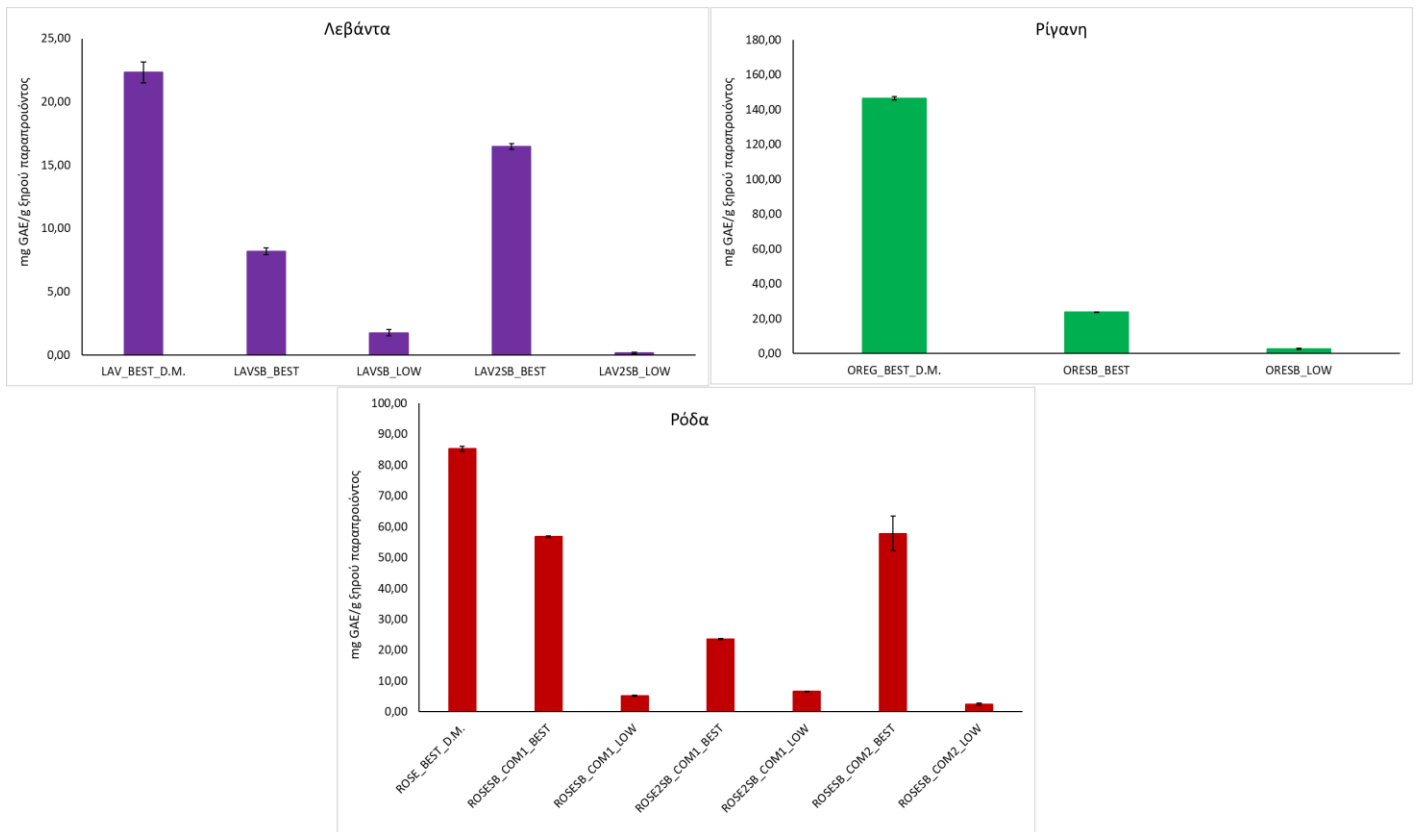
Παρακάτω παρατίθεται η εξίσωση πρόβλεψης για τα ρόδα:

$$\begin{aligned} \text{Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (mg/g ξηρών ροδοπέταλων)} = & -718 + 18,28 \times \text{ποσοστό} \\ & \text{αιθανόλης(\%)} + 8,12 \times \text{χρόνος εκχύλισης (λεπτά)} + 2,62 \times \text{αναλογία} \\ & \text{διαλύτη/δείγμα(ml/g)} + 2,545 \times \text{ένταση υπερήχων(\%)} - 0,1236 \times \text{ποσοστό} \\ & \text{αιθανόλης(\%)}^2 - 0,0597 \times \text{χρόνος εκχύλισης (λεπτά)}^2 - 0,0482 \times \text{αναλογία} \\ & \text{διαλύτη/δείγμα(ml/g)}^2 - 0,0289 \times \text{χρόνος εκχύλισης (λεπτά)} \times \text{ένταση υπερήχων(\%)} \end{aligned}$$

Με βάση την παραπάνω εξίσωση οι βέλτιστες συνθήκες για τα ροδοπέταλα είναι: συγκέντρωση αιθανόλης 71%, χρόνος εκχύλισης 25 λεπτά, αναλογία δείγματος/διαλύτη 1/40 και ισχύς υπερήχων 53%. Η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών σε αυτές τις συνθήκες μετρήθηκε $85,31 \pm 5,58$ GAE/g.

4.4 Παραπροϊόντα

Στο παρακάτω διάγραμμα αναγράφεται το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των εκχυλισμάτων λεβάντας, ρίγανης και ροδοπέταλων όπως αυτά προέκυψαν μετά την εκχύλιση των παραπροϊόντων με υπερήχους στις βέλτιστες συνθήκες και σε συνθήκες που αποδίδουν χαμηλή εκχύλιση φαινολικών. Επιπλέον, η πρώτη στήλη κάθε διαγράμματος αφορά την εκχύλιση της ξηρής δρόγης στις βέλτιστες συνθήκες.



Γράφημα 4.12: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο εκχυλισμάτων παραπροϊόντων λεβάντας, ρίγανης και ροδοπέταλων στις βέλτιστες συνθήκες εκχύλισης και σε συνθήκες που αποδίδουν χαμηλά φαινολικά και ολικό φαινολικό περιεχόμενο δρογών στις βέλτιστες συνθήκες.

Από τα παραπάνω διαγράμματα παρατηρείται ότι η δρόγη λεβάντας διαθέτει τη χαμηλότερη συγκέντρωση φαινολικών συστατικών, ακολουθούν τα ροδοπέταλα και το υψηλότερο φαινολικό περιεχόμενο, από τις δρόγες, έχει η ρίγανη. Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με τη βιβλιογραφία όπου η λεβάντα φαίνεται να έχει το χαμηλότερο φαινολικό περιεχόμενο συγκριτικά με τα άλλα δύο αρωματικά φυτά που μελετήθηκαν και η ρίγανη το υψηλότερο. Πιο συγκεκριμένα οι Adaszyńska-Skwirzyńska and Dzięcioł, 2017, μέτρησαν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο άνθη λεβάντας. Η εκχύλιση έγινε με υδατολακοολικό διάλυμα μεθανόλης και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η λεβάντα περιέχει 1,12–1,13 mgGA/g ξηρής δρόγης. Οι Spiridonetal., 2011 μέτρησαν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε λεβάντα. Η εκχύλιση έγινε με 40% υδατολακοολικό διάλυμα μεθανόλης σε μαγνητικό αναδευτήρα, για 4 ημέρες. Η περιεκτικότητα των ολικών φαινολικών στη λεβάντα (*Lavandula angustifolia*) μετρήθηκε στα 53 mgGA/g εκχυλίσματος.

Οι Rababahetal., 2010, μέτρησαν την περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά σε ρίγανη (*Origanum majorana*). Η εκχύλιση έγινε με 70% αιθανόλη στους 20°C και 60 °C. Τα αποτελέσματα έδειξαν καλύτερη εκχύλιση φαινολικών στους 60°C συγκριτικά με τους 20°C, με τιμές 2766,2 ± 179,9 mg GAE/100g και 600,7±51,2 mgGAE/100g, αντίστοιχα. Μάλιστα από την μελέτη αυτή φαίνεται ότι η εκχύλιση με υπερήχους είναι πιο αποτελεσματική από την συμβατική εκχύλιση. Επίσης, οι Spiridon et al., 2011 μέτρησαν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε φύλλα ρίγανης. Η εκχύλιση έγινε με 40% υδατοαλκοολικό διάλυμα μεθανόλης σε μαγνητικό αναδευτήρα, για 4 ημέρες. Η περιεκτικότητα των ολικών φαινολικών στη ρίγανη (*Origanum vulgare*) μετρήθηκε στα 67,8 mg GA/g εκχυλίσματος.

Οι Koczka etal., 2018, μέτρησαν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε ροδοπέταλα (*Rose damascene*) τα οποία εκχύλισαν με διάλυμα αιθανόλης/νερού και σκέτο νερό. Υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών μετρήθηκε στα δείγματα που εκχυλίστηκαν με διάλυμα αιθανόλης/νερού με τιμές 255,99-766,0 mg GAE/100g ξηρού δείγματος, συγκριτικά με αυτά που εκχυλίστηκαν με νερό τα οποία είχαν τιμές 150,8-299,2 mg GAE/100g ξηρού δείγματος. Η αναλογία αιθανόλης/νερού που χρησιμοποιήθηκε ήταν 80/20 και η εκχύλιση πραγματοποιήθηκε στους 20 °C για 24 ώρες. Όπως φαίνεται από τις παραπάνω τιμές, η εκχύλιση με υπερήχους είναι πιο αποτελεσματική στην εκχύλιση φαινολικών. Επίσης, οι Alizadeh andFattahi, 2021 μέτρησαν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο ροδοπέταλων από 26 διαφορετικά φυτά *Rosedamascene*, που συλλέχτηκαν στο Αζερμπαϊτζάν. Η εκχύλιση έγινε με υπερήχους στους 30 °C για μισή ώρα και με χρήση αιθανόλης 80%. Το ολικό περιεχόμενο σε φαινολικά κυμαινόταν από 64,92 έως 165,16 mg GAE/g ξηρού δείγματος. Τέλος, οι Chroho et al., 2022, μέτρησαν το ολικό φαινολικό περιεχόμενο σε ρόδα (*Rosa damascena*). Ως μέθοδο εκχύλισης χρησιμοποίησαν τη Soxhlet με διάλυμα αιθανόλης 70%. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο των ρόδων που είχε εκχυλιστεί σε αιθανολικό διάλυμα είναι 20,07 ± 1,00 mg GAE/g ξηρής μάζας. Άλλες μελέτες αναφέρουν 124,86 ± 1.54 mg GAE/g εκχυλίσματος, για υδατικά εκχυλίσματα και 276 ± 2.93 mg GAE/g ξηρής μάζας για υδατομεθανολικά εκχυλίσματα (Chroho et al., 2022).

Επιπλέον, από το διάγραμμα 4.12 παρατηρείται ότι οι δρόγες που εκχυλίστηκαν στις βέλτιστες συνθήκες έχουν σημαντικά υψηλότερες τιμές ολικού φαινολικού περιεχομένου από τα αντίστοιχα παραπροϊόντα που εκχυλίστηκαν στις ίδιες

συνθήκες. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο καθώς τα παραπροϊόντα έχουν υποστεί επεξεργασία (απόσταξη). Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται από την βιβλιογραφία καθώς έχει αναφερθεί μειωμένη αντιοξειδωτική ικανότητα στα απόβλητα αρωματικών φυτών, συγκριτικά με το αρχικό φυτό (Yarın et al., 2022). Οι Dina et al., 2022 μέτρησαν το συνολικό φαινολικό περιεχόμενο σε παραπροϊόντα Ελληνικής ρίγανης με τη μέθοδο της εκχύλισης με υπερήχους. Ο διαλύτης που χρησιμοποίησαν είναι μεθανόλη 50%. Το φαινολικό περιεχόμενο που μέτρησαν είναι $160,1 \pm 8$ GAE/g ξηρής μάζας. Οι de Elguea-Culebras et al., 2023 μέτρησαν το φαινολικό περιεχόμενο σε υδατικά απόβλητα ρίγανης και λεβάντας, όπως αυτά προέκυψαν μετά από υδρο-απόσταξη. Τα απόβλητα ξηράθηκαν με μικροκύματα και οι συγκεντρώσεις που προέκυψαν είναι $27,97 \pm 0,6$ mg GAE /g ξηρής μάζας για τη ρίγανη και $22,37 \pm 0,5$ mg GAE /g ξηρής μάζας για τη λεβάντα. Το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των παραπάνω μελετών είναι χαμηλότερο από τις τιμές στις δρόγες των φυτών που προαναφέρθηκαν. Τέλος, υπάρχει εμφανής διαφορά στο φαινολικό περιεχόμενο ανάμεσα στα δείγματα που εκχυλίστηκαν στις βέλτιστες συνθήκες και σε αυτά που εκχυλίστηκαν σε συνθήκες που αποδίδουν χαμηλή συγκέντρωση φαινολικών, με τα τελευταία να έχουν σημαντικά χαμηλότερη συγκέντρωση και στα τρία αρωματικά φυτά. Τα αποτελέσματα είναι αναμενόμενα και επιβεβαιώνουν την σωστή λειτουργία του πειραματικού σχεδιασμού.

Πίνακας 4.7: Ολικό φαινολικό περιεχόμενο (TPC) παραπροϊόντων σε τέσσερις συνθήκες εκχύλισης α) βέλτιστες συνθήκες, β) εκχύλιση σε συνθήκες που αποδίδουν χαμηλό (TPC), γ) μεσαίο (TPC) και δ) υψηλό (TPC).

Δείγμα παραπροϊόντος	TPC (mg GAE/g ξηρού υποστρώματος) (\pm stdev) ⁱ , n=3 ⁱⁱ
Λεβάντα_Βέλτιστες συνθήκες	8,18(\pm 0,26) ^{a,b}
Λεβάντα_Χαμηλό TPC	1,75(\pm 0,24) ^c
Λεβάντα_Μεσαίο TPC	9,10(\pm 0,68) ^{a,b}
Λεβάντα_Υψηλό TPC	6,21(\pm 2,3) ^a
Λεβάντα_9/2022_Βέλτιστες συνθήκες	16,47(\pm 0,22) ^e
Λεβάντα_9/2022_Χαμηλό TPC	0,1560(\pm 0,065) ^c
Λεβάντα_9/2022_Μεσαίο TPC	9,7(\pm 1,1) ^{b,d}

Λεβάντα_9/2022_Υψηλό TPC	12,6(±1,3) ^d
Ρίγανη_Βέλτιστες συνθήκες	23,8(±3,3) ^{A,C}
Ρίγανη_Χαμηλό TPC	3,77(±0,28) ^B
Ρίγανη_Μεσαίο TPC	21(±2,5) ^A
Ρίγανη_Υψηλό TPC	18(±4,5) ^A
Ρίγανη_9/2022_Βέλτιστες συνθήκες	52,3(±3,7) ^E
Ρίγανη_9/2022_Χαμηλο TPC	0,68(±0,45) ^B
Ρίγανη_9/2022_Μεσαίο TPC	29,6(±1,6) ^C
Ρίγανη_9/2022_Υψηλό TPC	44,2(±1,4) ^D
Ρόδα_Σάββας_15/6/2022_Βέλτιστες συνθήκες	56,7(±0,36) ⁴
Ρόδα_Σάββας_15/5/2022_Χαμηλο TPC	5,22(±0,36) ¹
Ρόδα_Σάββας_15/5/2022_Μεσαίο TPC	60,8(±3,3) ⁴
Ρόδα_Σάββας_15/5/2022_Υψηλό TPC	68,4(±3,4) ⁵
Ρόδα_Σάββας_30/5/2022_Βέλτιστες συνθήκες	23,6(±0,27) ³
Ρόδα_Σάββας_30/5/2022_Χαμηλό TPC	3,13(±0,28) ¹
Ρόδα_Σάββας_30/5/2022_Μεσαίο TPC	29,2(±4,4) ³
Ρόδα_Σάββας_30/5/2022_Υψηλό TPC	17,7(±0,67) ²

όπου: i: τυπική απόκλιση μετρήσεων; ii: αριθμός επαναλήψεων μετρήσεων; a-g: Παραπροϊόντα λεβάντας, δείγματα με διαφορετικά γράμματα ανά στήλη/ανάλυση διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p\text{-value}\leq 0,05$), A-E: Παραπροϊόντα ρίγανης, δείγματα με διαφορετικά γράμματα ανά στήλη/ανάλυση διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p\text{-value}\leq 0,05$) 1-5: Παραπροϊόντα ρόδων, δείγματα με διαφορετικούς αριθμούς ανά στήλη/ανάλυση διαφέρουν στατιστικά σημαντικά ($p\text{-value}\leq 0,05$).

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 4.7 τα παραπροϊόντα λεβάντας εμφανίζουν με διαφορά τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών από τα τρία αρωματικά φυτά. Αν συγκρίνουμε τα δύο παραπροϊόντα λεβάντας μεταξύ τους, παρατηρούμε ότι το δείγμα που παραλήφθηκε το φθινόπωρο (LAV2SB) έχει ελαφρώς υψηλότερες τιμές από εκείνο που παραλήφθηκε το καλοκαίρι (LAVSB). Ενδιάμεσες τιμές παρατηρούνται στα δείγματα παραπροϊόντων ρίγανης και τέλος, τις υψηλότερες με διαφορά τιμές εμφανίζουν τα παραπροϊόντα ροδοπέταλων και από τις τρεις παρτίδες που μελετήθηκαν. Παρόλα αυτά παρατηρούνται κάποιες διακυμάνσεις στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο των δειγμάτων του ίδιου φυτού.

Η διαφορά στην περιεκτικότητα των φαινολικών συστατικών εξαρτάται από την ποικιλία του φυτού, το σημείο ωρίμανσης του φυτού κατά την συγκομιδή του, τις εποχικές παραλλαγές και τις γεωγραφικές συνθήκες (Chroho et al., 2022). Δεδομένου ότι τα ροδοπέταλα παραλήφθηκαν με διαφορετικό τρόπο απόσταξης, σε διαφορετικούς χρόνους, είναι λογικό να υπάρχουν διακυμάνσεις στο φαινολικό τους περιεχόμενο. Τα ροδοπέταλα (ποικιλία *Rosa damascena*) που εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία καλλιεργούνται στη περιοχή της Δυτικής Μακεδονίας (Κοζάνη, Καστοριά), με μικρή υψομετρική διαφορά μεταξύ τους (100 μέτρα) και αποστάζονται άμεσα μετά την συγκομιδή τους. Μια από τις βασικές διαφορές μεταξύ των παρτίδων παραπροϊόντων που εξετάστηκαν αποτελεί η μέθοδος απόσταξης για την παραλαβή του αιθέριου ελαίου. Πιο συγκεκριμένα, στη μία περίπτωση χρησιμοποιήθηκε η υδρο-απόσταξη για 4,5 ώρες ενώ στην άλλη η υδρο-ατμο-απόσταξη για 4 ώρες. Μία ακόμα σημαντική διαφορά είναι η προέλευση της πρώτης ύλης (σπόρων). Στην μία περίπτωση η προέλευση είναι από την Βουλγαρία ενώ στη δεύτερη είναι από την Κοζάνη. Συνολικά παραλήφθηκαν δύο παρτίδες παραπροϊόντων που προέκυψαν από υδρο-ατμο-απόσταξη, μία στις 15/5/22 και μία στις 30/5/22 και μία παρτίδα που προέκυψε μέσω ατμο-απόσταξης, στις 30/5/22.

Παρατηρούνται διαφορές στην περιεκτικότητα των φαινολικών ανάμεσα στις δύο παρτίδες που έχουν παραχθεί μετά από υδρο-ατμο-απόσταξη, με την δεύτερη παρτίδα να έχει σημαντικά μικρότερη περιεκτικότητα σε φαινολικά συστατικά. Δεδομένου ότι έχουν αποσταχθεί με την ίδια μέθοδο, η διαφορά στο φαινολικό περιεχόμενο μπορεί να οφείλεται στις διαφορετικές καιρικές συνθήκες που πιθανόν να επικρατούσαν κατά την καλλιέργεια και συγκομιδή τους. Η περιεκτικότητα σε ολικά φαινολικά των παραπροϊόντων που παράχθηκαν μετά από ατμο-απόσταξη είναι σε παρόμοιο επίπεδο με αυτά της πρώτης παρτίδας που είχαν παραχθεί με υδρο-ατμο-απόσταξη, αν και είχαν όμως αποσταχθεί δύο εβδομάδες νωρίτερα. Επομένως, δε μπορεί να εξαχθεί κάποιο σαφές συμπέρασμα για το πως επηρεάζει η μέθοδος απόσταξης το ολικό φαινολικό περιεχόμενο των παραπροϊόντων που προκύπτουν.

5. Συμπεράσματα

Στόχος της παρούσας πτυχιακής εργασίας ήταν η βελτιστοποίηση της εκχύλισης παραπροϊόντων αρωματικών φυτών με υπερήχους για την παραλαβή φαινολικών συστατικών. Μελετήθηκαν δρόγες και στερεά παραπροϊόντα λεβάντας, ρίγανης και ροδοπέταλων.

Όπως αποδεικνύεται από τα αποτελέσματα, η εκχύλιση με υπερήχους είναι μία αποτελεσματική τεχνική για την εκχύλιση βιοδραστικών συστατικών και πιο συγκεκριμένα φαινολικών συστατικών, από αρωματικά φυτά και τα παραπροϊόντα τους. Μάλιστα, φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματική από τη συμβατική εκχύλιση, όπως φαίνεται βιβλιογραφικά. Ωστόσο ο πειραματικός σχεδιασμός και η βελτιστοποίηση της διεργασίας κρίνονται απαραίτητοι καθώς είναι αρκετοί οι παράγοντες που την επηρεάζουν (π.χ. διαλύτης, χρόνος εκχύλισης, αναλογία δείγματος/διαλύτη, θερμοκρασία, ένταση υπερήχων). Το γεγονός αυτό επιβεβαιώνεται από τη μεγάλη διακύμανση στις τιμές των εκχυλισμάτων του πειραματικού σχεδιασμού και στα τρία αρωματικά φυτά που μελετήθηκαν.

Από τον πειραματικό σχεδιασμό παρατηρείται ότι ο βέλτιστος χρόνος εκχύλισης και για τα τρία αρωματικά φυτά είναι τα 25 λεπτά και η βέλτιστη αναλογία δείγματος/διαλύτη είναι 1/40. Χαμηλότερες συγκεντρώσεις φαινολικών στις δρόγες των τριών αρωματικών φυτών παρατηρήθηκαν κατά την εκχύλιση τους με 100% αιθανόλη, ενώ με την προσθήκη νερού η συγκέντρωση των φαινολικών αυξάνεται. Επιπλέον, παρατηρείται ότι ο σημαντικότερος παράγοντας της διεργασίας, όπως προέκυψε από την ανάλυση ANOVA και τα διαγράμματα Pareto, είναι με διαφορά και στα τρία αρωματικά φυτά η συγκέντρωση της αιθανόλης.

Η συγκέντρωση του ολικού φαινολικού περιεχομένου τόσο της ξηρής δρόγης όσο και των παραπροϊόντων ρίγανης και ροδοπέταλων είναι αρκετά μεγαλύτερη από την συγκέντρωση που μετρήθηκε στη δρόγη και στα 2 διαφορετικά παραπροϊόντα λεβάντας. Συγκρίνοντας τη ρίγανη με τα ροδοπέταλα, είναι εμφανές ότι τα ροδοπέταλα έχουν υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών με τα περισσότερα δείγματα να έχουν συγκέντρωση μεγαλύτερη των 100 mg GAE/g ξηρής δρόγης. Όσον αφορά τα παραπροϊόντα, παρατηρείται η ίδια εικόνα με τα ρόδα να διαθέτουν την υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών, ακολουθούμενα από τα παραπροϊόντα ρίγανης και τέλος

αυτά της λεβάντας που εμφανίζουν τη χαμηλότερη συγκέντρωση. Και στα τρία αρωματικά φυτά παρατηρείται υψηλότερη συγκέντρωση φαινολικών ουσιών στη ξηρή δρόγη από ότι στα παραπροϊόντα τους. Τέλος, παρατηρούνται κάποιες διακυμάνσεις στο ολικό φαινολικό περιεχόμενο ανάμεσα στα διαφορετικά παραπροϊόντα λεβάντας, γεγονός που πιθανόν οφείλεται στη διαφορετική εποχή απόσταξης της ξηρής δρόγης. Διακυμάνσεις παρατηρούνται και στα διαφορετικά παραπροϊόντα ροδοπέταλων, πιθανόν λόγω της διαφορετικής τεχνικής απόσταξης που χρησιμοποιήθηκε για την παραλαβή του αιθέριου ελαίου τους (υδρο-απόσταξη ή υδρο-ατμο-απόσταξη).

Συμπερασματικά και βάση όλων των παραπάνω αποτελεσμάτων προτείνονται τα παραπροϊόντα ρίγανης και ροδοπέταλων για περαιτέρω χρήση στη βιομηχανία τροφίμων, λόγω του υψηλού φαινολικού τους περιεχομένου. Σημαντικό κριτήριο στην επιλογή του φυτού αποτελεί το τελικό προϊόν και τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά.

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Adaszyńska-Skwirzyńska, M., &Dzięcioł, M. (2017). Comparison of phenolic acids and flavonoids contents in various cultivars and parts of common lavender (*Lavandula angustifolia*) derived from Poland. *Natural product research*, 31(21), 2575-2580.

Ahmad, N., Tian, W., Zengliu, S., Zou, Y., Farooq, S., Huang, Q., & Xiao, J. (2022). Recent advances in the extraction, chemical composition, therapeutic potential, and delivery of cardamom phytochemicals. *Frontiers in Nutrition*, 9.

Ahmed, N. & Mir, F. Q. (2022). Box–Behnken design for optimization of iron removal by hybrid oxidation–microfiltration process using ceramic membrane. *Journal of Materials Science*, 57(32), 15224-15238.

Alizadeh, Z., & Fattahi, M. (2021). Essential oil, total phenolic, flavonoids, anthocyanins, carotenoids and antioxidant activity of cultivated Damask Rose (*Rosa damascena*) from Iran: With chemotyping approach concerning morphology and composition. *Scientia Horticulturae*, 288, 110341.

Bernal, M. P., Sommer, S. G., Chadwick, D., Qing, C., Guoxue, L., & Michel, F. C., (2017). Current Approaches and Future Trends in Compost Quality Criteria for Agronomic, Environmental, and Human Health Benefits, *Advances in Agronomy*, 144, 143-233, Academic Press.

Boskabady, M. H., Shafei, M. N., Saberi, Z., & Amini, S. (2011). Pharmacological effects of *Rosa damascena*. *Iranian journal of basic medical sciences*, 14(4), 295.

Calderón-Oliver, M., & Ponce-Alquicira, E. (2021). Environmentally friendly techniques and their comparison in the extraction of natural antioxidants from green tea, rosemary, clove, and oregano. *Molecules*, 26(7), 1869.

Campos, S.R.M., (2018) Chapter 2- Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power, *Bioactive Compounds*. Woodhead Publishing, 33-50.

Chen, C., You, L. J., Abbasi, A. M., Fu, X., & Liu, R. H. (2015). Optimization for ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry fruits with antioxidant and hyperglycemic activity in vitro. *Carbohydrate Polymers*, 130, 122-132.

Chen, Y., Zhao, L., He, T., Ou, Z., Hu, Z., & Wang, K. (2019). Effects of mango peel powder on starch digestion and quality characteristics of bread. *International journal of biological macromolecules*, 140, 647-652.

Cheynier, V. (2012). Phenolic compounds: from plants to foods. *Phytochem Rev.*, 1-25.

Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., & Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic Plants as a Source of Bioactive Compounds. *Agriculture*, 2(3), 228-243.

Chroho, M., Bouymajane, A., Oulad El Majdoub, Y., Cacciola, F., Mondello, L., Aazza, M., ... & Bouissane, L. (2022). Phenolic Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Extract from Flowers of *Rosa damascena* from Morocco. *Separations*, 9(9), 247.

Chroho, M., Bouymajane, A., Oulad El Majdoub, Y., Cacciola, F., Mondello, L., Aazza, M., ... & Bouissane, L. (2022). Phenolic Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Extract from Flowers of *Rosa damascena* from Morocco. *Separations*, 9(9), 247.

Comunian, T. A., Silva, M. P., & Souza, C. J. (2021). The use of food by-products as a novel for functional foods: Their use as ingredients and for the encapsulation process. *Trends in Food Science & Technology*, 108, 269-280.

Costa Carvalho, D., Costa S.H., Gonçalves Albuquerque, T., Ramos F., Castilho C.M., & Sanches-Silva A. (2017). Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends in Food Science & Technology*, 1-19.

Cui, Q., Du, R., Liu, M., & Rong L. (2020). Lignans and Their Derivatives from Plants as Antivirals. *Molecules*, 25, (183), 1-17.

d'Alessandro, L. G., Kriaa, K., Nikov, I., & Dimitrov, K. (2012). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and purification technology*, 93, pp. 42-47.

de Elguea-Culebras, G. O., Panamá-Tapia, L. A., Melero-Bravo, E., Cerro-Ibáñez, N., Calvo-Martínez, A., & Sánchez-Vioque, R. (2023). Comparison of the phenolic composition and biological capacities of wastewater from *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia lavandulifolia* Vahl. and *Thymus mastichina* L.

resulting from two hydrodistillation systems: Clevenger and MAE. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 34, 100480.

de Toledo, N. M. V., Nunes, L. P., da Silva, P. P. M., Spoto, M. H. F., & Canniatti-Brazaca, S. G. (2017). Influence of pineapple, apple and melon by-products on cookies: physicochemical and sensory aspects. *International journal of food science & technology*, 52(5), 1185-1192.

Deligiannidou, G.E., Kontogiorgis, C, Hadjipavlou-Litina D., Lazari, D., Konstantinidis T., & Papadopoulos A., (2018). Antioxidant Contribution of Lavender (*Lavandula Angustifolia*), Sage (*Salvia Officinalis*), Tilia (*Tilia Tomentosa*) and Sideritis (*Sideritis Perfoliata*) Beverages Prepared At Home. *SDRP Journal of Food Science & Technology*.

Díaz-Vela, J., Totosaus, A., & Pérez-Chabela, M. L. (2015). Integration of Agroindustrial Co-Products as Functional Food Ingredients: Cactus Pear (*O punctia ficus indica*) Flour and Pineapple (*A nanas comosus*) Peel Flour as Fiber Source in Cooked Sausages Inoculated with Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2630-2638.

Dina, E., Vontzalidou, A., Cheilari, A., Bagatzounis, P., Agapidou, E., Giannenas, I., ... & Aligiannis, N. (2022). Sustainable Use of Greek Herbs By-Products, as an Alternative Source of Biologically Active Ingredients for Innovative Products. *Frontiers in Nutrition*, 9, 867666.

Dinkova, R., Vardakas, A., Dimitrova, E., Weber, F., Passon, M., Shikov, V., ... & Mihalev, K. (2022). Valorization of rose (*Rosa damascena* Mill.) by-product: polyphenolic characterization and potential food application. *European Food Research and Technology*, 248(9), 2351-2358.

Ferreira, S. C., Bruns, R. E., Ferreira, H. S., Matos, G. D., David, J. M., Brandão, G. C., ... & Dos Santos, W. N. L. (2007). Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica chimica acta*, 597(2), pp. 179-186.

Giannakourou, M. C., Tsironi, T., Thanou, I., Tsagri, A. M., Katsavou, E., Lougovois, V., ... & Sinanoglou, V. J. (2019). Shelf life extension and improvement of the nutritional value of fish fillets through osmotic treatment based on the sustainable use of *rosa damascena* distillation by-products. *Foods*, 8(9), 421.

Kant, R., & Kumar, A. (2022). Review on essential oil extraction from aromatic and medicinal plants: Techniques, performance and economic analysis. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 30, 100829.

Kapadia, P., Newell, A. S., Cunningham, J., Roberts, M. R., & Hardy, J. G. (2022). Extraction of High-Value Chemicals from Plants for Technical and Medical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10334.

Kazemi, M.; Karim, R.; Mirhosseini, H.; Abdul Hamid, A. (2016). Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. *Food Chem.*, 206, pp. 156–166.

Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., & Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food chemistry*, 119(2), 851-858.

Kintzios. E.S. (2012). *Oregano*. Woodhead Publishing Limited, 1-20.

Koczka, N., Stefanovits-Bányai, É., & Ombódi, A. (2018). Total polyphenol content and antioxidant capacity of rosehips of some *Rosa* species. *Medicines*, 5(3), 84.

Kosakowska, O, Weglarz, Z., Pióro-Jabrucka, E., Przybył, L. J., Krasniewska K., Gniewosz M., & Baczek K. (2021). Antioxidant and Antibacterial Activity of Essential Oils and Hydroethanolic Extracts of Greek Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) and Common Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*). *Molecules* 26 (988), 1-15

Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325.

Lanjekar, K. J., Gokhale, S., & Rathod, V. K. (2022). Utilization of waste mango peels for extraction of polyphenolic antioxidants by ultrasound-assisted natural deep eutectic solvent. *Bioresource Technology Reports*, 18, 101074.

Lubbe, A., & Verpoorte R. (2011). Review. Cultivation of medicinal and aromatic plants for specialty industrial materials. *Industrial Crops and Products*. 34, 785-801.

Manousi, N., Sarakatsianos I., & Samanidou V., Chapter 10: Extraction Techniques of Phenolic Compounds and Other Bioactive Compounds from Medicinal and Aromatic Plants. *Engineering Tools in the Beverage Industry*, 283-314.

Mehta, N., Kumar, P., Verma, A. K., Umaraw, P., Khatkar, S. K., Khatkar, A. B., ... & Sazili, A. Q. (2022). Ultrasound-Assisted Extraction and the Encapsulation of Bioactive Components for Food Applications. *Foods*, 11(19), 2973.

Mercado-Mercado, G.; Montalvo-González, E.; González-Aguilar, G.A.; Alvarez-Parrilla, E.; Sáyago-Ayerdi, S.G. Ultrasoundassisted extraction of carotenoids from mango (*Mangifera indica* L. 'Ataulfo') by-products on in vitro bioaccessibility. *Food Biosci.* 2018, 21, pp. 125–131.

Munir, A. (2010). Design, development and modeling of a solar distillation system for the processing of medicinal and aromatic plants (Doctoral dissertation).

Munir, M., Nadeem, M., Qureshi, T. M., Jabbar, S., Atif, F. A., & Zeng, X. (2016). Effect of protein addition on the physicochemical and sensory properties of fruit bars. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(3), 559-566.

Natarajan, R.; Chen, X.; Lau, R. (2015). Ultrasound Applications in Lipid Extractions from Microalgae. In *Production of Biofuels and Chemicals with Ultrasound*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp. 117–139.

Nayebi, N., Khalili, N., Kamalinejad, M., & Emtiazy, M. (2017). A systematic review of the efficacy and safety of *Rosa damascena* Mill. with an overview on its phytopharmacological properties. *Complementary therapies in medicine*, 34, 129-140.

Nile, S.H.; Nile, A.S.; Keum, Y.-S. (2017). Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods. *3 Biotech*, 7, pp. 76.

P. Zhou, X. Wang, P. Liu, J. Huang, C. Wang, M. Pan, Z. Kuang. (2018). Enhanced phenolic compounds extraction from *Morus alba* L. leaves by deep eutectic solvents combined with ultrasonic-assisted extraction, *Ind. Crop. Prod.* 120.

Pinto, T., Aires, A., Cosme, F., Bacelar, E., Morais M. C., Oliveira, I., Ferreira-Cardoso, J., Anjos, R., Vilela, A., & Gonçalves B. (2021). Review. Bioactive (Poly)

phenols, Volatile Compounds from Vegetables, Medicinal and Aromatic Plants. Medicinal and Aromatic Plants. Foods. 10 (106), 1-29.

Psarrou, I.; Oreopoulou, A.; Tsimogiannis, D.; Oreopoulou, V. (2020). Extraction Kinetics of Phenolic Antioxidants from the Hydro Distillation Residues of Rosemary and Effect of Pretreatment and Extraction Parameters. *Molecules*. 25, 4520

Putra, N. R., Aziz, A. H. A., Faizal, A. N. M., & Che Yunus, M. A. (2022). Methods and Potential in Valorization of Banana Peels Waste by Various Extraction Processes: In Review. *Sustainability*, 14(17), 10571.

Qin, L., Yu, J., Zhu, J., Kong, B., & Chen, Q. (2021). Ultrasonic-assisted extraction of polyphenol from the seeds of *Allium senescens* L. and its antioxidative role in Harbin dry sausage. *Meat Science*, 172, 108351.

Rababah, T. M., Banat, F., Rababah, A., Ereifej, K., & Yang, W. (2010). Optimization of extraction conditions of total phenolics, antioxidant activities, and anthocyanin of oregano, thyme, terebinth, and pomegranate. *Journal of Food Science*, 75(7), C626-C632.

Rahman, M.M.; Lamsal, B.P. (2021). Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 20.

Ramdan, B., Mrid, R. B., Ramdan, R., El Karbane, M., & Nhiri, M. (2021). Promising effects of *Rosa damascena* petal extracts as antioxidant and antibacterial agents. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34(1).

Rodríguez-Mena, A., Ochoa-Martínez, L. A., González-Herrera, S. M., Rutiaga-Quiñones, O. M., González-Laredo, R. F., & Olmedilla-Alonso, B. (2022). Natural pigments of plant origin: Classification, extraction and application in foods. *Food Chemistry*, 133908.

Roldán-Gutiérrez, J. M., Ruiz-Jiménez, J., & De Castro, M. L. (2008). Ultrasound-assisted dynamic extraction of valuable compounds from aromatic plants and flowers as compared with steam distillation and superheated liquid extraction. *Talanta*, 75(5), 1369-1375.

Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., & Donkor, O. N. (2016). Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage. *LWT-Food Science and technology*, 65, 978-986.

Sahaa A., B.B. Basak, B.B. (2019). Scope of value addition and utilization of residual biomass from medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops & Products*, 1-16.

Şahin, S. & Şamlı, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), pp. 595-602.

Schanes, K., Dobernic, K. & Gözet, B. (2018). Food waste matters-A systematic review of household food waste practices and their policy implications. *Journal of cleaner production*, 182, 978-991.

Shams, K. A., Abdel-Azim, N. S., Saleh, I. A., Hegazy, M. F., El-Missiry, M. M., Hammouda, F. M., ... & Tahrir, E. (2015). Green technology: economically and environmentally innovative methods for extraction of medicinal & aromatic plants (MAP) in Egypt. *J. Chem. Pharm. Res*, 7(5), 1050-1074.

Skotti, E., Anastasaki, E., Kanellou, G., Polissiou, M., & Tarantilis, A. P. (2013). Total phenolic content, antioxidant activity and toxicity of aqueous extracts from selected Greek medicinal and aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, 53, 46-54.

Solomou, A. D., Martinos, K., Skoufogianni, E., & Danalatos, N. G. (2016). Medicinal and aromatic plants diversity in Greece and their future prospects: A review. *Agricultural Science*, 4, 9-20.

Spiridon, I., Bodirlau, R. & Teaca, C. A. (2011). Total phenolic content and antioxidant activity of plants used in traditional Romanian herbal medicine. *Central European Journal of Biology*, 6, 388-396.

Srivastava K. J., Shankar, E., & Gupta, S. (2010). Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future (Review). *Molecular Medicine Reports*, 3 (6) 895-901.

Taskın, B.; Özbek, Z.A. (2020). Optimisation of microwave effect on bioactives contents and colour attributes of aqueous green tea extracts by central composite design. *J. Food Meas. Charact.* 14, pp. 2240–2252.

Tekin, K.; Akalın, M.K.; ,Seker, M.G. (2015). Ultrasound bath-assisted extraction of essential oils from clove using central composite design. *Ind. Crops Prod.*, 77, pp. 954–960.

Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.

Tonuttia, I. & Liddle, P. (2010). Aromatic plants in alcoholic beverages.A review. *Flavour Fragr. J.*,25, pp. 341–350.

Yang, J., Li, N., Wang, C., Chang, T., & Jiang, H. (2021). Ultrasound-homogenization-assisted extraction of polyphenols from coconut mesocarp: Optimization study. *Ultrasonics Sonochemistry*, 78, 105739.

Yarin, T., Dutta, B., Murmu K.D, Medda PS & Das S. (2022). Valorization of medicinal and aromatic plants waste: Review article. *The Pharma Innovation Journal*, 11(1): 532-537.

Zhang, D. Y., Wan, Y., Xu, J. Y., Wu, G. H., Li, L., & Yao, X. H. (2016). Ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry leaves and their effect on enhancing antioxidant activity. *CarbohydratePolymers*, 137, 473-479.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ασημομύτης, Γ. και Βλαχάκη, Δ. (2021). Μελέτη αξιοποίησης αποβλήτων φυτικής προέλευσης για την παραλαβή συστατικών προστιθέμενης αξίας - κλασικές και καινοτόμες τεχνικές. Πτυχιακή εργασία, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής.

Βελόπουλος, Ι. (2022). Εφαρμογή των υπέρηχων στην απόσταξη ελαίου ρίγανης. Μεταπτυχιακή διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Ευαγγελία Κωνσταντέλη. (2019). Μελέτη της διεργασίας εγκλεισμού του φυσικού αντιοξειδωτικού τυροσόλη σε βιοσυμβατούς νανοφορείς με εφαρμογή Πειραματικού Σχεδιασμού. Μεταπτυχιακή Εργασία. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Κάλφας, Η. (2018). Αρωματικά Φυτά. Αμερικανική Γεωργική Σχολή. Θεσσαλονίκη. 5-95.

Κωνσταντίνος, Ζ. (2020). Συγκριτική μελέτη βιοδραστικών συστατικών δενδρολίβανου με βάση την ποικιλία και την εποχή συγκομιδής. Διπλωματική εργασία. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Μακρής, Π. Δ. (2019). Αξιοποίηση Αγρο-Διατροφικών Αποβλήτων. Ενότητα Π.4: Υδατοδιαλυτές χρωστικές & αντιοξειδωτικά. Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Παπαγιάμη, Ο. (2022). Μελέτη της διατροφικής αξίας και της επίδρασης στην υγεία, λειτουργικών τροφίμων που προέρχονται από την αξιοποίηση αγροτοβιομηχανικών υποπροϊόντων. Διδακτορική Διατριβή. Πανεπιστήμιο Αιγαίου.

Συμπούρα, Φ. (2009) Απομόνωση και Μελέτη Βιοδραστικών Συστατικών Αρωματικών Φυτών. Μεταπτυχιακή Διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Χαλκάκης, Α. (2021). Διερεύνηση καταναλωτικών προτύπων προϊόντων φαρμακευτικών και αρωματικών φυτών. Πτυχιακή Εργασία. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.